

#### ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΔΙΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ-ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ»

## Διερεύνηση βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης πολυφωσφορικών βακτηρίων σε συστήματα απομάκρυνσης αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης

Ουρανία Καλοπίση Λόντου

Επιβλέπων: Κωνσταντίνος Νουτσόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής

Αθήνα, Ιούνιος 2021

## Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα μου Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Νουτσόπουλο, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ'όλη τη διαδικασία εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Η συνεχής καθοδήγησή του έπαιξε καθοριστικό ρόλο στην επίλυση αποριών τόσο κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη του εργαστηρίου Μαριάννα Γιολδάση και Νίκο Κουρή για τη συνεχή βοήθεια και τις χρήσιμες συμβουλές που μου παρείχαν κατά την εκπόνηση των εργαστηριακών μετρήσεων.

Θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτορα Δημήτρη Ανδρεαδάκη για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε, την υπομονή και τη συνεχή καθοδήγηση που μου έδωσε καθ'όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Επίσης, ευχαριστώ την υποψήφια διδάκτορα Σταυρούλα Καππά και τη διδάκτορα Έλενα Κουμάκη για τις χρήσιμες υποδείξεις τους κατά την εκπόνηση της πειραματικής διαδικασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη συμφοιτήτρια μου και φίλη Βέρα Χαραλάμπους για τη συμπαράσταση και την άψογη συνεργασία μας όλο αυτό το διάστημα που διήρκησε η πειραματική διαδικασία και η συγγραφή της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

## Περίληψη

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων σε σύστημα ενεργού ιλύος με ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης.

Τα ολοένα και αυστηρότερα νομοθετικά μέτρα για τα επιτρεπόμενα όρια των συγκεντρώσεων των θρεπτικών (C, N, P) στην εκροή των Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Λυμάτων αποτελούν επιτακτική ανάγκη για το σχεδιασμό καινοτόμων συστημάτων επεξεργασίας. Η διάθεση των ανεπαρκώς επεξεργασμένων αποβλήτων οδηγεί στη δημιουργία του φαινομένου του ευτροφισμού, υποβαθμίζοντας την ποιότητα των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων. Επίσης, η ύπαρξη οργανικών, τοξικών ουσιών, βαρέων μετάλλων κ.α. δεν επιτρέπει την επαναχρησιμοποίηση της περίσσειας ιλύος ή την ανάκτηση θρεπτικών οι οποίες αποτελούν βασικές πρακτικές της κυκλικής οικονομίας. Η βιολογική επεξεργασία είναι μία οικονομική και περιβαλλοντικά αποδεκτή λύση για την απομάκρυνση του οργανικού άνθρακα, αζώτου, φωσφόρου από τα εισερχόμενα απόβλητα σε μία ΕΕΛ.

Οι Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων συνήθως διαθέτουν την κύρια γραμμή επεξεργασίας των εισερχόμενων λυμάτων και τη γραμμή επεξεργασίας ιλύος. Τα στραγγίδια αφυδάτωσης, τα οποία προκύπτουν από τη δεύτερη, περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου και φωσφόρου. Η επανακυκλοφορία τους στην είσοδο της ΕΕΛ αυξάνει το φορτίο των θρεπτικών κατά 10-30%, με αποτέλεσμα να δημιουργείται συσσώρευση αυτών στο ανάμεικτο υγρό της δεξαμενής βιολογικού καθαρισμού. Η απότομη μεταβολή των φυσικοχημικών παραμέτρων υποβαθμίζουν τις μεταβολικές διεργασίες των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στη βιομάζα των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας. Έτσι, η ξεχωριστή επεξεργασία των στραγγιδίων αφυδάτωσης είναι αναγκαία πριν την είσοδο τους στην κύρια γραμμή

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου πραγματοποιείται μέσω των μεταβολικών διεργασιών των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Τα πολυφωσφορικά βακτήρια έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης, οξειδώνοντας τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs με αποδέκτη ηλεκτρονίων είτε το οξυγόνο είτε τα νιτρικά/νιτρώδη υπό αερόβιες και ανοξικές συνθήκες, αντίστοιχα. Η ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου από τα PAOs μειώνει τις ανάγκες σε οργανικό άνθρακα, ενέργεια για αερισμό και τη παραγόμενη ποσότητα περίσσειας ιλύος, συμβάλλοντας στην ταυτόχρονη απομάκρυνση απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου.

Τα στραγγίδια αφυδάτωσης χαρακτηρίζονται από χαμηλό λόγο COD/N με αποτέλεσμα να είναι αναγκαία η χρήση εξωτερικής πηγής άνθρακα για την επίτευξη της νιτροποίησης-απονιτροποίησης. Τα τελευταία χρόνια, η διαδικασία της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης εφαρμόζεται ολοένα και περισσότερο για την απομάκρυνση των υψηλών εισερχόμενων φορτίων αζώτου στις ΕΕΛ. Η αναχαίτιση του δεύτερου σταδίου της νιτροποίησης, δηλαδή η μετατροπή του νιτρώδους αζώτου σε νιτρικό άζωτο μειώνει τη ζήτηση σε οξυγόνο και πηγή άνθρακα. Ωστόσο, η αναχαίτιση των NOB μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση των νιτρωδών στο τέλος της αερόβιας φάσης των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας.

Η χρήση μονοβάθμιων συστημάτων διευκολύνει τη δημιουργία των κατάλληλων συνθηκών για την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου μέσω της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Ωστόσο, οι παραπάνω βιολογικές διεργασίες πραγματοποιούνται στον ίδιο χώρο με αποτέλεσμα τα πολυφωσφορικά βακτήρια να εκτίθενται στις υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού, νιτρώδους αζώτου και κατ επέκταση στην ελεύθερη αμμωνία (NH<sub>3</sub>-N-FA) και στο ελεύθερο νιτρώδες οξύ (HNO<sub>2</sub>-N-FNA) τα οποία παράγονται κατά τη διαδικασία της νιτρωδοποίσης-απονιτρωδοποίησης. Οι δύο αυτές ουσίες αποτελούν αναχαιτιστικούς ή ακόμη και τοξικούς παράγοντες για τον αερόβιο/ανοξικό μεταβολισμό των PAOs σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις ανάλογα με την τιμή του pH και της θερμοκρασίας.

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, χρησιμοποιήθηκε βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας τύπου SBR για τη διερεύνηση της ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Ο πιλοτικός SBR εργαστηριακής κλίμακας εγκαταστάθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του ΕΜΠ και λειτούργησε τη χρονική περίοδο Σεπτέμβριος-Απρίλιος 2020-2021. Κατά το στάδιο εκκίνησης του αντιδραστήρα προστέθηκε ανάμεικτο υγρό από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας και πραγματοποιούνταν πειράματα τύπου batch για τον έλεγχο της κατάστασης της βιομάζας, έτσι ώστε να εξακριβωθεί η ικανότητα των PAOs να προσλαμβάνουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης υπό αερόβιες συνθήκες.

Η εφαρμογή 4 σύντομων κύκλων λειτουργίας ημερησίως με 1 ώρα αναερόβια, 2 ώρες αερόβια και 2,5 ώρες ανοξική φάση ο καθένας, ευνόησε την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Η επιλογή του προπιονικού οξέος σε συνδυασμό με τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης έδωσαν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs II έναντι των γενών *Competibacter* και *Defluviiccocus vanus II*, αντίστοιχα. Επίσης, τα PAOs αποκτούν προτεραιότητα έναντι των τυπικών ετεροτροφικών απονιτροποιητικών βακτηρίων να απονιτρωδοποιήσουν με την τροφοδοσία να πραγματοποιείται μετά την πρώτη 1,5 ώρα της ανοξικής φάσης.

Αφού επιτεύχθηκαν σταθερές συνθήκες στον αντιδραστήρα, το συνολικό χρονικό διάστημα λειτουργίας του χωρίστηκε σε δύο περιόδους με βάση το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου. Η 1<sup>η</sup> περίοδος λειτουργίας του SBR ήταν από 4 Νοεμβρίου 2020 έως 17 Ιανουαρίου 2021 με αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,1±0,02 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Η 2<sup>η</sup> περίοδος ξεκίνησε στις 25/01/2021 και ολοκληρώθηκε στις 25/04/2021 με σταθερή αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. O αντιδραστήρας επεξεργάστηκε στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή επεξεργασίας ιλύος της ΕΕΛ της Ψυττάλειας κατά τη διάρκεια της 1<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας. Τα στραγγίδια αφυδάτωσης από την κύρια γραμμή επεξεργασίας ιλύος της ΕΕΛ της Ψυττάλειας αντικαταστάθηκαν με στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή της υδρόλυσης περίπου στα μέσα της 2<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του SBR. Ωστόσο, η αλλαγή αυτή υποβάθμισε τη φάση καθίζησης του συστήματος με αποτέλεσμα η τροφοδοσία του να αλλάξει πάλι σε συνθετικά λύματα.

Στόχος της εβδομαδιαίας in-situ παρακολούθησης του συστήματος ήταν η καταγραφή των συγκεντρώσεων των συμβατικών ρύπων (NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P, COD, TSS και VSS), έτσι ώστε να προσδιοριστεί ο αερόβιος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου από τα PAOs σε συνάρτηση με τη μεταβολή των παραπάνω φυσικοχημικών παραμέτρων κατά τη μακροχρόνια λειτουργία του αντιδραστήρα. Επίσης, το pH, η θερμοκρασία, το διαλυμένο οξυγόνο και η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του SBR ελέγχονταν σε καθημερινή βάση, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η σταθερή λειτουργία του συστήματος και η σταδιακή αύξηση του εισερχόμενου φορτίου αμμωνίας.

Οι τρεις σειρές πειραμάτων batch πραγματοποιήθηκαν εντός των δύο περιόδων λειτουργίας του αντιδραστήρα για τη διερεύνηση του βαθμού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA στις διάφορες συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου για τις διαφορετικές τιμές του pH (7,5, 8, 8,5). Για τις ανάγκες των batch πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν 4 γυάλινοι περιέκτες χωρητικότητας 500 mL ανάμεικτου υγρού από τον αντιδραστήρα SBR. Το ένα δοχείο χρησιμοποιήθηκε για πείραμα Control (δοχείο C). Το δοχείο Α περιείχε κατάλληλη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου, ενώ το δοχείο Β περιείχε κατάλληλη συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου. Το δοχείο Γ περιείχε συνδυαστικά συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου.

Η υψηλή φόρτιση αζώτου στην είσοδο του SBR εξασφάλισε την επαρκή ποσότητα ελεύθερης αμμωνίας (>0,1 mg NH<sub>3</sub>-N/L) για την επικράτηση των AOB έναντι των NOB. Επίσης, η εφαρμογή μικρού χρόνου παραμονής στερεών (θc) δεν επέτρεψε την ανάπτυξη των NOB στη βιομάζα του SBR. Τα νιτρωδοποιητικά βακτήρια παρέμειναν στο σύστημα καθ΄όλη τη διάρκεια λειτουργίας του SBR, απομακρύνοντας τις ολοένα και αυξανόμενες συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου, παρά την απότομη μείωση του του pH στο τέλος της 2<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του συστήματος.

Ο μέσος αερόβιος και ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου ήταν περίπου ίσοι με 18-20 mg P/g VSS/hr και 8-10 mg P/g VSS/hr, αντίστοιχα, κατά τη 1<sup>n</sup> περίοδο λειτουργίας του SBR με μέση εισερχόμενη αμμωνιακή φόρτιση περίπου ίση με 0,1 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Η μέση συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος δεν ξεπέρασε τα 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L με βάση τις τιμές του pH και της θερμοκρασίας στο τέλος της αερόβιας φάσης της 1<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του SBR. Ο μεγαλύτερος αερόβιος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου (PURaer=38,3 mg P/g VSS/h) από τα PAOs καταγράφηκε 1 εβδομάδα μετά από τη μέγιστη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου (NO<sub>2</sub>-N=12,86 mg/L) στο τέλος της αερόβιας φάσης εντός της 1<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του συστήματος. Ο αερόβιος μεταβολισμός των PAOs αναχαιτίστηκε κυρίως από την παρουσία του FNA παρά από τη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου κατά την ταυτόχρονη διαδικασία της νιτρωδοποίησης.

Η μέση αερόβια ταχύτητα πρόσληψης φωσφόρου μειώθηκε στα 10,2 mg P/gr VSS/hr με την αύξηση του εισερχόμενου φορτίου αμμωνιακού αζώτου στα 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d κατά τη 2<sup>η</sup> περίοδο λειτουργίας του SBR. Την ίδια περίοδο, η ανοξική ταχύτητα απομάκρυνσης φωσφόρου μειώθηκε κατά 50%. Η διαδικασία της EBPR αστόχησε, έπειτα την έκθεση των PAOs σε συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος ίση με 8,15x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 6,5 στο τέλος της αερόβιας φάσης του αντιδραστήρα SBR.

Ο υπολογισμός των αναμενόμενων βαθμών αναχαίτισης του PURaer υπό την ταυτόχρονη παρουσία της FA και του FNA μπορεί να γίνει πολλαπλασιαστικά με βάση τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης που καταγράφηκαν υπό την ξεχωριστή παρουσία των δύο αυτών αναχαιτιστικών ουσιών στις διάφορες συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου για τις διαφορετικές τιμές του pH.

#### Abstract

The purpose of this postgraduate study is to investigate the optimal growth conditions for polyphosphate bacteria in an activated sludge system with simultaneous nitrogen removal by nitritation - denitritation.

The increasingly strict legislative measures for the permitted limits of the nutrients concentrations (C, N, P) in the effluent of WWTP are an urgent need for the implementation of innovative wastewater treatment systems. The disposal of poorly treated sewage leads to different environmental problems, such as eutrophication, degrading the quality of surface and groundwater. Also, the existence of organic, toxic substances, heavy metals etc. do not allow the reuse of excess sludge or the recovery of nutrients which is basic practises of circular economy. Biological treatment is a financially and environmentally acceptable method for the removal of organic carbon, nitrogen and phosphorus from incoming waste in a WWTP.

A typical WWTP usually has the main line that treats incoming wastewater and also a secondary line that treats the sludge. The reject water, which comes from the sludge treatment process, contains high nitrogen and phosphorus concentrations. Their recirculation at the entrance of the WWTP increases the nutrient loading by 10-30%. The abrupt change of physicochemical parameters degradates the metabolic processes of microorganisms that grow in the biological treatment systems. The inhibition of the metabolic processes of nitrifying, denitrifying and polyphosphate bacteria leads to the accumulation of nutrients in the mixed liquor of the reactor. Thus, the separate treatment of the reject water is necessary before its entry into the main treatment line of WWTP.

The Enhanced Biological Removal (EBPR) of phosphorus takes place through the metabolic processes of polyphosphate bacteria. Polyphosphate bacteria have the ability to absorb the phosphorus of the liquid phase, by oxidizing the internal stored PHAs with the oxygen or nitrite/nitrate as electron acceptors under aerobic or anoxic conditions, respectively. The simultaneous anoxic removal of phosphorus and

ammonium nitrogen from PAOs, reduces the needs for organic carbon and energy for ventilation and the amount of the produced excess sludge.

Also, reject water is characterized by a low COD/N ratio, as a result it is necessary to use an external carbon source to achieve the conventional nitrificationdenitrification. In recent years, the process of nitritation-denitritation is increasingly applied to nitrogen removal in WWTP. The shortcut nitritation-denitritation reduces the demand of oxygen and carbon source. However, the nitritation can lead to the accumulation of nitrites at the end of the aerobic phase of the biological treatment systems.

The use of single stage sludge systems facilitates the creation of suitable conditions for the simultaneous removal of nitrogen and phosphorus through nitritation-denitritation and EBPR. However, PAOs are exposed to high concentrations of ammonium, nitrite nitrogen and therefore to the free nitrous acid (HNO<sub>2</sub>-N-FNA) and free ammonia (NH<sub>3</sub>-N-FA), which are produced by nitritation-denitritation, while all the biological processes take place in the same reactor. These substances are inhibitory or even toxic for the aerobic/anoxic metabolism of PAOs at certain concentrations of the nitrite and ammonium nitrogen depending on the pH and temperature.

For the purpose of this postgraduate study, a lab scale sequencing batch reactor (SBR) was developed in order to be examined the growth of polyphosphate bacteria during the simultaneous removal of nitrogen by nitritation-denitritation. The lab scale SBR was installed in the Laboratory of Sanitary Engineering of National Technical University of Athens and operated from September 2020 to April 2021. During the start-up phase of the reactor, mixed liquid was added from the WWTP of Psutaleia into the reactor and batch experiments were carried out to monitor the status of the biomass in order to be determined the ability of PAOs to absorb the phosphorus of the liquid phase under aerobic conditions.

The implementation of 4 short operating cycles per day with 1 hour anaerobic, 2 hours aerobic and 2,5 hours anoxic phase for each one, favored the growth of polyphosphate bacteria. The choice of propionate in combination with the nitritation

process gave PAOs II a competitive advantage over the *Competibacter* and *Defluviiccocus vanus II*, respectively. Also, PAOs take precedence over heterotrophic denitrifying bacteria to use the nitrite as electron acceptor in order to remove phosphorus and nitrogen, while feeding took place after the first 1,5 hour of the anoxic phase.

When stable conditions were reached in the reactor, its operation was divided into two periods based on the incoming nitrogen loading rate (NLR). The 1<sup>st</sup> operating period of the SBR was from 4 November 2020 to 17 January 2021 with NLR equal to  $0,1\pm0,02$  g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup> -d. The 2<sup>nd</sup> period started on 25/01/2021 and was completed on 25/04/2021 with a stable NLR equal to 0,15 g/ NH<sub>4</sub>/ m<sup>3</sup>-d. The reactor treated reject water from the sludge line of WWTP of Psyttaleia during the 1<sup>st</sup> operating period. The reject water from the main sludge line of Psyttaleia WWTP was replaced with reject water from the sludge line of hydrolysis around the middle of the 2<sup>nd</sup> operating period of the SBR. However, this change caused sedimentation problems, so the system power supply changed to synthetic wastewater.

The aim of the weekly in-situ monitoring of the system was to be measured the concentrations of conventional pollutants (NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P, COD, TSS and VSS), in order to be examined the aerobic phosphorus removal rate from PAOs during the long-term operation of the reactor. Also, the pH, temperature, dissolved oxygen and the concentration of the ammonium nitrogen in the effluent of SBR were monitored on a daily basis, to ensure the stability of the system and the gradual increase of the incoming nitrogen loading rate.

The three series of batch experiments were performed within the two operating periods of the reactor in order to be investigated the degree of inhibition of aerobic phosphorus uptake rate by PAOs, under the combined effect of FA and FNA at different concentrations of ammonium and nitrite nitrogen for different pH values (7,5, 8, 8,5). For the needs of the batch experiments, 4 glass containers were used as bioreactors with a capacity of 500 mL of mixed liquid from the SBR reactor. The first bioreactor was used for Control experiment in order to specify the aerobic phosphorus uptake rate in absence of inhibitory substances. The second bioreactor contained an appropriate concentration of nitrite nitrogen, while the third

bioreactor contained an appropriate concentration of ammonium nitrogen. The fourth bioreactor contained combined concentrations of ammonium and nitrite nitrogen.

The high nitrogen loading rate ensured sufficient concentration of free ammonia (>0,1 mg NH<sub>3</sub>-N/L) for the achievement of the nitritation process. Also, the implementation of a short SRT leads to the inhibition of NOB. The high concentrations of ammonium nitrogen removed from the system by nitritation through the whole operation of the SBR, despite the sharp decrease of pH at the end of the 2<sup>nd</sup> operating period of the system.

The average aerobic and anoxic phosphorus uptake rate was about 18-20 mg P/g VSS/h and 8-10 mg P/g VSS/h, respectively, with an average incoming nitrogen loading rate of approximately 0,1 g NH<sub>4</sub> /m<sup>3</sup>-d. Also, the average concentration of free nitrous acid did not exceed  $0,1x10^{-3}$  mg HNO<sub>2</sub>-N/L regarding the pH and temperature values at the end of the aerobic phase of the 1<sup>st</sup> SBR operating period. The highest aerobic phosphorus removal rate from PAOs (PURaer = 38,3 mg P/g VSS/h) was achieved 1 week after the maximum concentration of the nitrite nitrogen (NO<sub>2</sub>-N = 12,86 mg /L) at the end of the aerobic phase during the 1<sup>st</sup> operating period. The aerobic phosphorus uptake rate is inhibited mainly by the presence of the free nitrous acid rather than the concentrations of the nitrite nitrogen during the simultaneous nitritation.

The average aerobic phosphorus uptake rate decreased to 10,23 mg P/gr VSS/hr with the increasing incoming NLR to 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d during the 2<sup>nd</sup> SBR operating period. During the same period, the anoxic phosphorus uptake rate decreased by 50%. The EBPR process stopped completely after the exposure of PAOs to free nitrous acid of a concentration equal to  $8,15\times10^{-3}$  mg HNO<sub>2</sub>-N/L at a pH of 6,5 at the end of the aerobic phase of the SBR reactor.

The calculation of the predicted degree of inhibition of aerobic phosphorus uptake rate under the combined effect of FA and FNA can be done multiplicatively based to the percentages of inhibition measured under the separate effect of free ammonia and free nitrous acid at the different concentrations of ammonium and nitrite nitrogen for the three different pH values tested.

## Πίνακας Περιεχομένων

1	Εισο	<b>ι</b> γωγή	1
	1.1	Διατύπωση του προβλήματος	1
	1.2	Σκοπός και δομή της παρούσας διπλωματικής εργασίας	6
2	Βιβλ	ιογραφική Ανασκόπηση	8
	2.1	Γενικά	8
	2.2	Βιολογική απομάκρυνση αζώτου στα λύματα	8
	2.2.: απο	1 Μεταβολισμός και μικροοργανισμοί εμπλεκόμενοι στην νιτροποίηση- νιτροποίηση	.3
	2.3 συνθη	Νιτρωδοποίηση-Απονιτρωδοποίηση και στρατηγικές επίτευξης των κατάλληλων κών για τη νιτρωδοποίηση1	.7
	2.4	Βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου2	6
	2.4.3	1 Γενικά	6
	2.4.2	2 Μηχανισμός της βιολογικής απομάκρυνσης του φωσφόρου 2	7
	2.4.3	3 Μικροβιακή κοινότητα στη βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου	2
	2.4.4	4 Παράγοντες που επηρεάζουν την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου 3	7
	2.4.	5 Ελεύθερη αμμωνία (FA)5	9
3	Μέθ	<b>θοδοι πειραματικών μετρήσεων</b> 6	5
	3.1	Γενικά6	5
	32	Μέτορση ολικών αιωρούμενων (TSS) και πτητικών στερεών (VSS)	
	5.2		6
	3.3	Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	8
	3.3 3.4	Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	6 8 70
	3.3 3.4 3.5	Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	6 8 70 71
	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> </ol>	Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	6 8 0 1 1
	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> <li>3.7</li> </ol>	<ul> <li>Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)</li></ul>	66 88 70 71 74
4	3.3 3.4 3.5 3.6 3.7 Пец	Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	6 8 70 71 74 74
4	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>Πειρ</li> <li>4.1</li> </ol>	Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	6 8 70 71 74 74 76
4	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>Πειρ</li> <li>4.1</li> <li>4.2</li> </ol>	<ul> <li>Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)</li></ul>	6 8 70 71 74 74 76 6 0
4	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>Πειρ</li> <li>4.1</li> <li>4.2</li> <li>4.2.1</li> </ol>	<ul> <li>Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)</li></ul>	6 8 70 71 74 74 76 76 76 76
4	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>Πειρ</li> <li>4.1</li> <li>4.2</li> <li>4.2.2</li> <li>4.3</li> </ol>	<ul> <li>Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)</li></ul>	6 8 70 71 74 76 76 76 76 76 76 76 72 9
4	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>Πειρ</li> <li>4.1</li> <li>4.2</li> <li>4.2.3</li> <li>4.4</li> </ol>	<ul> <li>Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)</li></ul>	6 8 70 71 74 76 76 76 76 76 79 9
4	<ol> <li>3.3</li> <li>3.4</li> <li>3.5</li> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>Πειφ</li> <li>4.1</li> <li>4.2</li> <li>4.2.2</li> <li>4.3</li> <li>4.4</li> <li>4.4.2</li> </ol>	Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	6 8 7 1 4 7 6 6 0 2 9 9 R

	4.4. φωα	3 5φόρ	Διερεύνηση της επίδρασης της αλατότητας στον αερόβιο ρυθμό πρόσληψι ου από τα PAOs	ης . 94
5	Παρ	ουσί	αση και ανάλυση αποτελεσμάτων	. 96
	5.1	Γενι	κά	. 96
	5.2	Απο	τελέσματα SBR	. 98
	5.2.	1	1η Περίοδος λειτουργίας (4/11/2020-17/01/2021)	. 98
	5.2. βακ	2 τήριο	Αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου (PURaer) από τα πολυφωσφορικα x 102	ά
	5.2.	3	2η Περίοδος λειτουργίας (25/01/2021-25/04/2021)	111
	5.2.	4	Αερόβιος και ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου	120
	5.3	Απο	τελέσματα πειραμάτων	122
	5.3. συν	1 δυασ	Προσδιορισμός του πειραματικού βαθμού αναχαίτισης του PURaer υπό τη μένη επίδραση της FA και του FNA (Batch 10/12/2020)	ו 122
	5.4	Περ	ιγραφή και ανάλυση αποτελεσμάτων των πειραμάτων batch	126
	5.4.	1	Σύγκριση πειραματικών και αναμενόμενων βαθμών αναχαίτισης του PURa 131	aer
	5.4.	2	Πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer υπό τη συνδυασμένη	
	επίδ	δρασι	η της FA και του FNA με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch :	134
6	Συμ	περά	σματα	136
7	Βιβλ	λιογρ	αφία	141
8	Παρ	αρτή	μα: Πίνακες	147

## Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 2.1 Αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs	. 29
Εικόνα 2.2 Μερική απεικόνιση της διαδικασίας της γλυκόλυσης συμπεριλαμβανομένου το	ου
σταδίου της κατάλυσης της 6-φωσφορικής φρουκτόζης από το ένζυμο της	
φωσφοφρουκτοκινάσης	42
Εικόνα 3.1 Ζυγός ακριβείας	66
Εικόνα 3.2 αφυγραντήρας	67
Εικόνα 3.3 Φούρνος στους 103-105 °C	67
Εικόνα 3.4 Φούρνος στους 550 °C	68
Εικόνα 3.5 Μέτρηση ορθοφωσφορικών	71
Εικόνα 3.6 Φασματοφωτόμετρο	. 71
Εικόνα 3.7 BUCHI 314	.73
Εικόνα 3.8 μέτρηση αμμωνιακού αζώτου με χρήση αντιδραστηρίου nessler	.73
Εικόνα 3.9 pH 3110 (HACH) και οχi 330i	. 75
Εικόνα 4.1 Εργαστηριακός αντιδραστήρας SBR	81

## Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 4.1 Λειτουργικά χαρακτηριστικά SBR	88
Πίνακας 5.1 Λειτουργικά χαρακτηριστικά 1ης περιόδου λειτουργίας του SBR	99
Πίνακας 5.2 Παρακολούθηση συστήματος: Δεκέμβριος 2020	105
Πίνακας 5.3 Συγκεντρώσεις FNA: Παρακολούθηση συστήματος 23/12/2020	109
Πίνακας 5.4 Λειτουργικά χαρακτηριστικά 2ης περιόδου λειτουργίας του SBR	112
Πίνακας 5.5 Συγκεντρώσεις FNA: Παρακολούθηση συστήματος 27/01/2021	114
Πίνακας 5.6 Συγκεντρώσεις FNA: Παρακολούθηση συστήματος 5/04/2021	120
Πίνακας 5.7 Συγκεντρώσεις NO2-N και NH4-N: Batch 10/12/2020	125
Πίνακας 5.8 Πειραματική και αναμενόμενη αναχαίτιση του PURaer υπό τη συνδυασμ	ιένη
επίδραση της FA και του FNA στο δοχείο Γ	132
Πίνακας 5.9 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του PURaer παρου	σία
FNA για pH ίσο με 8	133
Πίνακας 5.10 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FA για	ρΗ ίσο
με 8	133
Πίνακας 5.11 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FNA γι	αрН
ίσο με 7,5	133
Πίνακας 5.12 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FA για	ρΗ ίσο
με 7,5	133
Πίνακας 5.13 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FNA γι	αрН
ίσο με 8,5	134
Πίνακας 5.14 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FA για	ρΗ ίσο
με 8,5	134
Πίνακας 5.15 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του PURaer στο δ	οχείο
Γ	135

## Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 5.1 Γραμμική μεταβολή συγκέντρωσης φωσφόρου για τις 2/12, 9/12, 23/12, 29/12.
Σχήμα 5.2 Μέσος μηνιαίος PURaer για την 1η περίοδο λειτουργίας του συστήματος 104
Σχήμα 5.3 Μεταβολή του PURaer σε σχέση με το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου
με βάση τις τιμές που καταγράφηκαν στον SBR και στα πειράματα αναφοράς (Control) των
τριών σειρών πειραμάτων batch κατά την αερόβια φάση
Σχήμα 5.4 Επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον PURaer
Σχήμα 5.5 Συγκεντρώσεις FNA σε σχέση με το χρόνο (hr): Παρακολούθηση συστήματος
23/12/2020
Σχήμα 5.6 Επίδραση της συγκέντρωσης FNA (2hr αερόβια φάση) στον PURaer
Σχήμα 5.7 Συγκεντρώσεις FNA σε σχέση με το χρόνο (hr): Παρακολούθηση συστήματος
27/01/2021
Σχήμα 5.8 .Μεταβολή των τιμών του pH στην εκροή του SBR σε σχέση με το χρόνο 115
Σχήμα 5.9 Μεταβολή του PURaer σε σχέση με τις τιμές του pH στην εκροή του SBR 116
Σχήμα 5.10 Μεταβολή του pH σε σχέση με το χρόνο στην εκροή του SBR (για το διάστημα
που ήταν εφικτή η αφαίρεση αυτής από 21 έως 31 Μαρτίου 2021) και στην αρχή της
αναερόβιας φάσης
Σχήμα 5.11 Συγκεντρώσεις FNA σε σχέση με το χρόνο (hr): Παρακολούθηση συστήματος
5/04/2021
Σχήμα 5.12 Αερόβιος και ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου σε σχέση με την
εισερχόμενη φόρτιση αμμωνιακού αζώτου κατά τη διάρκεια της 1 <sup>ης</sup> και 2 <sup>ης</sup> περιόδου
λειτουργίας του SBR
Σχήμα 5.13 Μεταβολή της συγκέντρωσης φωσφόρου σε σχέση με το χρόνο,
Batch:10/12/2020
Σχήμα 5.14 Γραμμική μεταβολή της συγκέντρωσης φωσφόρου στο κάθε δοχείο, Batch:
10/12/2020

## 1 Εισαγωγή

#### 1.1 Διατύπωση του προβλήματος

Η αστικοποίηση και η ανάπτυξη της οικονομίας έχουν οδηγήσει στη ραγδαία αύξηση του όγκου των παραγόμενων λυμάτων και κατ επέκταση των ποσοτήτων των προς επεξεργασία αποβλήτων στην είσοδο των Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Αστικών Λυμάτων. Η ανεπαρκής επεξεργασία των αποβλήτων πριν τη διάθεσή τους στο έδαφος και στη συνέχεια στα υδάτινα σώματα ευθύνεται για μία σειρά περιβαλλοντικών προβλημάτων, όπως η υπερθέρμανση του πλανήτη, η μόλυνση των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων (Feng et al., 2021). Τα τελευταία χρόνια, η κατανάλωση ορυκτών καυσίμων και λιπασμάτων κατά τη διαδικασία παραγωγής (γεωργία, βιομηχανία) έχει προκαλέσει έκλυση μεγάλων ποσοτήτων αζώτου και φωσφόρου στο περιβάλλον (Li et al., 2020).

Η ποιοτική υποβάθμιση των υδάτων οφείλεται κυρίως στο φαινόμενο του ευτροφισμού. Οι υψηλές συγκεντρώσεις του αζώτου και του φωσφόρου που περιέχονται στα ανεπεξέργαστα ή ανεπαρκώς επεξεργασμένα λύματα οδηγούν στην ανάπτυξη αλγών και άλλων φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών, όπως τοξικών κυανοβακτηρίων (μπλε-πράσινα άλγη) στην επιφάνεια του υδάτινου αποδέκτη (λίμνες, αβαθείς κόλποι) (Oehmen et al., 2007). Οι μικροοργανισμοί αυτοί δεν επιτρέπουν στο ηλιακό φως να διαπεράσει την επιφάνεια του υδάτινου σώματος με αποτέλεσμα το θάνατο των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών. Η κυτταρική λύση των μικροοργανισμών αυτών αποτελεί πηγή ενέργειας και άνθρακα για τα ετερότροφα βακτήρια που βρίσκονται στα μεγαλύτερα βάθη του υδάτινου αποδέκτη. Έτσι, οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί οξειδώνουν την οργανική τροφή, καταναλώνοντας το διαθέσιμο διαλυμένο οξυγόνο με σκοπό τη κάλυψη των ενεργειακών τους αναγκών, όπως η συντήρηση του κυττάρου, η σύνθεση νέου κυτταρικού υλικού. Ο ρυθμός κατανάλωσης του διαλυμένου οξυγόνου από τα ετερότροφα βακτήρια είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό επαναερισμού του υδάτινου σώματος. Συνεπώς, η παρεμπόδιση της ηλιακής ακτινοβολίας και η

αποξυγόνωση του υδάτινου αποδέκτη οδηγούν στην αναχαίτιση τόσο των καταβολικών όσο και των αναβολικών διεργασιών των φυτών και των ζώων.

Τα ολοένα και αυστηρότερα νομοθετικά μέτρα στοχεύουν στον περιορισμό των συγκεντρώσεων του φωσφόρου (1 mg/L) και του αζώτου (10 mg/L) στις εκροές των Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Αστικών Λυμάτων, έτσι ώστε το υπερκείμενο υγρό από τη δεξαμενή της δευτεροβάθμιας καθίζησης να διατίθεται με ασφαλή τρόπο στο έδαφος (Oleszkiewicz et Barnard, 2006). Επίσης, η εξάντληση των φυσικών πόρων (θρεπτικά, ενέργεια) αποτελεί βασικό κίνητρο για την εφαρμογή βιώσιμων μεθόδων επεξεργασίας των αστικών λυμάτων. Η ταυτόχρονη απομάκρυνση θρεπτικών (C, P, N) μέσω των βιολογικών διεργασιών (νιτροποίησηαπονιτροποίηση, βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου) εφαρμόζεται στα περισσότερα σύγχρονα συστήματα ενεργού ιλύος. Τα συστήματα αυτά πετυχαίνουν υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης του αζώτου και του φωσφόρου με την ελάχιστη περιβαλλοντική επιβάρυνση (Oehmen et al., 2007, Bashar et al., 2018). Η εξισορρόπηση του λειτουργικού, ενεργειακού κόστους ή ακόμη και η παραγωγή ενέργειας σε μία ΕΕΛ μπορούν να επιτευχθούν μέσω της ανάκτησης των φυσικών πόρων και της επαναχρησιμοποίησης της περίσσειας ιλύος (Wang et al., 2017). Έτσι, ο κατάλληλος σχεδιασμός μιας ΕΕΛ απαιτεί την πλήρη κατανόηση των διαφόρων διαδικασιών κατά την επεξεργασία των εισερχόμενων αποβλήτων με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης της ΕΕΛ με το μικρότερο δυνατό κόστος.

Αρχικά, τα εισερχόμενα απόβλητα στην ΕΕΛ υφίστανται προεπεξεργασία, όπως εσχάρωση, εξάμμωση, απολίπανση και μέτρηση παροχής με σκοπό την απομάκρυνση των μεγάλων σε μέγεθος υλικών τα οποία μπορούν να προκαλέσουν έμφραξη αγωγών και κατ επέκταση σοβαρές βλάβες στο μηχανολογικό εξοπλισμό (π.χ. αντλίες) της εγκατάστασης. Έπειτα, ακολουθεί η δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης όπου τα αιωρούμενα στερεά καθιζάνουν στον πυθμένα, λόγω της βαρύτητας με αποτέλεσμα την απομάκρυνση ενός μικρού ποσοστού του οργανικού φορτίου, περίπου ίσο με το 30%. Στη συνέχεια το υπερκείμενο υγρό εισέρχεται στο βιολογικό καθαρισμό για την ταυτόχρονη απομάκρυνση του αζώτου και του φωσφόρου μέσω της νιτροποίησης-απονιτροποίησης και της δέσμευσης των ορθοφωσφορικών από τους πολυφωσφορικούς μικροοργανισμούς. Στη δεξαμενή

τελικής καθίζησης, τα αιωρούμενα στερεά καθιζάνουν και απομακρύνονται από το σύστημα μέσω της απόρριψης της περίσσειας ιλύος. Το υπερκείμενο υγρό διατίθεται στους υδάτινους αποδέκτες. Η παραγόμενη περίσσεια ιλύς από τη πρωτοβάθμια και τη δευτεροβάθμια καθίζηση εισέρχεται στη γραμμή επεξεργασίας ιλύος. Η γραμμή αυτή αποτελείται από τη μονάδα πάχυνσης και χώνευσης (αερόβια-αναερόβια χώνευση) της πρωτοβάθμιας ιλύος, τη μονάδα πάχυνσης της βιολογικής ιλύος, τη μονάδα μεταπάχυνσης της πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας ιλύος και τέλος τη μονάδα αφυδάτωσης της μεταπαχυμένης ιλύος. Η επεξεργασία της ιλύος στοχεύει στη μείωση του όγκου και στην αφαίρεση της περιεχόμενης υγρασίας σε ποσοστό 80% με σκοπό τη μεταγενέστερη μεταφορά, την ασφαλή διάθεση ακόμη και την επαναχρησιμοποίησή της ως εδαφοβελτιωτικό (Ανδρεαδάκης 2015, Hu et al., 2017, Alsina et al., 2020). Επίσης, η σταθεροποίηση της παραγόμενης ιλύος αποσκοπεί στην απομάκρυνση των παθογόνων μικροοργανισμών, στη διάσπαση του ευκολοδιασπάσιμου οργανικού υλικού και στη μείωση των οσμών (Ανδρεαδάκης 2015). Το ρεύμα των στραγγιδίων, το οποίο δημιουργείται από τη μονάδα της πάχυνσης και της αφυδάτωσης της ιλύος, χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου (500-1500 mg/L), φωσφόρου (19-35 mg TP/L) και από χαμηλό λόγο του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου και αζώτου (COD/N<1), καθώς το COD κυμαίνεται μεταξύ 100 και 2000 mg COD/L. Ο χαμηλός λόγος COD/N δυσχεραίνει την τυπική διαδικασία της νιτροποίησης-απονιτροποίησης, λόγω της έλλειψης της οργανικής τροφής για το μεταβολισμό των απονιτροποιητικών βακτηρίων (Wang et al., 2020, Frison et al., 2014, Hu et al., 2017, Gali et al., 2007). Επιπλέον, τα στραγγίδια πιθανώς περιέχουν νηματοειδή βακτήρια τα οποία πρόκειται να προκαλέσουν διόγκωση στη δευτεροβάθμια δεξαμενή καθίζησης (Hu et al., 2017). Τα στραγγίδια αυτά επανακυκλοφορούνται στην είσοδο της ΕΕΛ μαζί με τα εισερχόμενα προς επεξεργασία λύματα. Αν και αποτελούν μόνο το 2% της συνολικής ροής των εισερχόμενων αποβλήτων, μπορούν να αυξήσουν το φορτίο του αζώτου στην είσοδο της εγκατάστασης επεξεργασίας κατά 10-30%. Επομένως, η ξεχωριστή επεξεργασία των στραγγιδίων είναι αναγκαία με σκοπό τη μείωση του συνολικού φορτίου αζώτου στην κύρια γραμμή επεξεργασίας και την επίτευξη των επιθυμητών συγκεντρώσεων θρεπτικών στην εκροή της ΕΕΛ (Wang et al., 2020, Choi et al., 2019).

Η βιολογική επεξεργασία των στραγγιδίων προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα από οικονομικής και οικολογικής άποψης (Tora et al., 2014). Οι βιολογικές διεργασίες πραγματοποιούνται από ποικίλους μικροοργανισμούς οι οποίοι συνυπάρχουν στη βιομάζα του βιολογικού καθαρισμού μιας ΕΕΛ. Ωστόσο, ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών επηρεάζεται από διάφορους λειτουργικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες με αποτέλεσμα οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών να μεταβάλλονται στην εκροή των ΕΕΛ. Επίσης, συνθήκες αστάθειας και ανεπαρκούς απομάκρυνσης φωσφόρου έχουν παρατηρηθεί σε αρκετές εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών λυμάτων με ταυτόχρονη νιτροποίηση-απονιτροποίηση και βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, λόγω των διαφόρων αναχαιτιστικών παραγόντων (ελεύθερη αμμωνία, ελεύθερο νιτρώδες οξύ) στο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Συγκεκριμένα, η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου εξαρτάται από το μεταβολισμό των πολυφωσφορικών (PAOs) και των απονιτροποιητικών πολυφωσφορικών βακτηρίων (DPAOs). Τα DPAOs έχουν τη δυνατότητα να απομακρύνουν ταυτόχρονα φώσφορο και άζωτο υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας, μειώνοντας τη συνολική ζήτηση σε διαλυμένο οξυγόνο, πηγή άνθρακα και την παραγόμενη ποσότητα της περίσσειας ιλύος (Oehmen et al., 2007, Li et al., 2020). Η χρήση χημικών κροκιδωτικών, όπως το αργίλιο (Al<sup>3+</sup>), ο σίδηρος (Fe<sup>3+</sup>) αυξάνουν το λειτουργικό, ενεργειακό κόστος και τη ποσότητα της παραγόμενης περίσσειας ιλύος κατά τη χημική κατακρήμνιση του φωσφόρου. Επίσης, τα φωσφορικά με χημικό τύπο PO4<sup>3-</sup> σχηματίζουν ισχυρούς δεσμούς με τα ιόντα των μετάλλων του αργιλίου και του σιδήρου. Το γεγονός αυτό μειώνει τις συγκεντρώσεις του φωσφόρου στη σταθεροποιημένη ιλύ (βιο-στερεά) η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εδαφοβελτιωτικό (Bashar et al., 2018).

Η βιολογική απομάκρυνση αζώτου από τα στραγγίδια πραγματοποιείται μέσω της τυπικής διαδικασίας της νιτροποίησης-απονιτροποίησης η οποία προσφέρει σταθερή και σχετικά απλή λειτουργία σε μία ΕΕΛ. Ωστόσο, η επίτευξη της πλήρους νιτροποίησης-απονιτροποίησης συνήθως απαιτεί την προσθήκη εξωτερικής πηγής αλκαλικότητας (NaHCO<sub>3</sub>) και οργανικού άνθρακα (μεθανόλη). Επίσης, τα νιτροποιητικά βακτήρια καταναλώνουν αρκετά μεγάλες συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου με αποτέλεσμα την αύξηση των ενεργειακών απαιτήσεων για αερισμό. Ο

σχεδιασμός των σύγχρονων συστημάτων επεξεργασίας στοχεύει στην επίτευξη της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης κατά την οποία πραγματοποιείται μόνο η οξείδωση του αμμωνιακού αζώτου σε νιτρώδη (NH4+->NO2) και έπειτα η μετατροπή των νιτρωδών σε αέριο άζωτο (NO2<sup>-</sup> ->N2). Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης πετυχαίνει μείωση της κατανάλωσης του διαλυμένου οξυγόνου και της πηγής άνθρακα σε ποσοστό 25 και 40%, αντίστοιχα (Hu et al., 2017, Tora et al., 2014, Wang et al., 2014, Gali et al., 2007). Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης επιτυγχάνεται μέσω της αναχαίτισης των οξειδωτών των νιτρωδών (NOB-nitrite oxidizing bacteria), μεταβάλλοντας τις περιβαλλοντικές και λειτουργικές παραμέτρους του συστήματος επεξεργασίας. Σύμφωνα με διάφορες πειραματικές μελέτες, η μείωση του χρόνου παραμονής των στερεών και της διάρκειας του χρόνου αερισμού σε συνδυασμό με την αύξηση της συγκέντρωσης της εισερχόμενης αμμωνίας δίνουν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα AOB (AOBammonia oxidizing bacteria) έναντι των ΝΟΒ. Ωστόσο, τα υψηλά φορτία αμμωνιακού αζώτου σε συνδυασμό με άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το pH, η θερμοκρασία μπορούν να προκαλέσουν τη συσσώρευση της ελεύθερης αμμωνίας (FA) και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA ή HNO2). Οι υψηλές συγκεντρώσεις της FA και του FNA αναχαιτίζουν τις μεταβολικές διεργασίες τόσο των νιτροποιητικών όσο και των πολυφωσφορικών βακτηρίων (Zheng et al., 2021, Wang et al., 2014). Οι βιοαντιδραστήρες διαλείποντος έργου (SBR), οι βιοαντιδραστήρες ακινητοποιημένης βιομάζας, οι αντιδραστήρες ανοδικής ροής κοκκώδους βιομάζας, οι αντιδραστήρες κινούμενης κλίνης προσκολλημένης βιομάζας αποτελούν καινοτόμες τεχνολογίες για την απομάκρυνση των θρεπτικών μέσω της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης του φωσφόρου (Choi et al., 2019). Τέλος, η εναλλαγή αναερόβιων, αερόβιων, ανοξικών συνθηκών και η εφαρμογή κύκλων λειτουργίας μικρής διάρκειας ενισχύουν το μεταβολισμό των νιτροποιητικών, απονιτροποιητικών και των πολυφωσφορικών βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρες τύπου SBR (Wang et al., 2020, Chen et al., 2013).

# 1.2 Σκοπός και δομή της παρούσας διπλωματικήςεργασίας

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά την ταυτόχρονη αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. απομάκρυνση Επίσης, αντικείμενο μελέτης της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί ο προσδιορισμός του βαθμού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια υπό τη συνδυασμένη επίδραση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας. Η καλλιέργεια των πολυφωσφορικών βακτηρίων πραγματοποιήθηκε σε αντιδραστήρα εργαστηριακής κλίμακας τύπου SBR όπου εναλλάσσονταν αναερόβιες, αερόβιες και ανοξικές συνθήκες για συγκεκριμένη διάρκεια και κύκλους λειτουργίας ημερησίως. Αφού επιτεύχθηκαν σταθερές συνθήκες λειτουργίας στο βιοαντιδραστήρα, ακολούθησαν τρεις σειρές πειραμάτων τύπου batch με την προσθήκη διαφόρων συγκεντρώσεων νιτρώδους και αμμωνιακού αζώτου για διαφορετικές τιμές του pH, έτσι ώστε να διερευνηθεί η επίτευξη της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου κατά την ταυτόχρονη παρουσία του νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας υπό αερόβιες συνθήκες.

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελείται από τα εξής κεφάλαια:

- Το πρώτο κεφάλαιο αποτελείται από την παρούσα εισαγωγή η οποία περιλαμβάνει και το σκοπό της παρούσας μελέτης.
- Το δεύτερο κεφάλαιο περιλαμβάνει τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, περιγράφοντας το μηχανισμό των βιολογικών διεργασιών, το μεταβολισμό και τα είδη της μικροβιακής κοινότητας κατά τη βιολογική απομάκρυνση των θρεπτικών. Επίσης, περιγράφονται οι κατάλληλες συνθήκες για την επίτευξη της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου.

- Το τρίτο κεφάλαιο περιγράφει τον εργαστηριακό εξοπλισμό, τις μεθόδους
   που εφαρμόστηκαν για τη μέτρηση και τον προσδιορισμό των διαφόρων
   φυσικοχημικών παραμέτρων σύμφωνα με το πειραματικό πρωτόκολλο.
- Το τέταρτο κεφάλαιο αποτελείται από την περιγραφή της γενικής λειτουργίας του αντιδραστήρα SBR και των πειραματικών διαδικασιών που εφαρμόστηκαν για τη κάλυψη του σκοπού της παρούσας διπλωματικής εργασίας.
- Το πέμπτο κεφάλαιο αποτελείται από τη παραουσίαση και το σχολιασμό των αποτελεσμάτων.
- Το έκτο κεφάλαιο περιλαμβάνει τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τα αποτελέσματα της παρούσας εργαστηριακής μελέτης.

## 2 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

#### 2.1 Γενικά

Н ενός βιοαντιδραστήρα τύπου SBR νιτρωδοποίησηχρήση με απονιτρωδοποίηση και ταυτόχρονη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου αποτελεί μία οικονομική και ενεργειακά βιώσιμη μέθοδο επεξεργασίας των αστικών αποβλήτων (Akin et al., 2003, Guo et al., 2011, Wang et al., 2020). Ωστόσο, η βιολογική απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου πραγματοποιείται μέσω των μεταβολικών διεργασιών ποικίλων μικροοργανισμών οι οποίες επηρεάζονται σε διαφορετικό βαθμό από την ταυτόχρονη μεταβολή των λειτουργικών, περιβαλλοντικών και φυσικοχημικών παραμέτρων σε μία ΕΕΛ. Η απότομη εναλλαγή των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στην είσοδο μιας εγκατάστασης επεξεργασίας αποβλήτων μπορεί να προκαλέσει το την αναχαίτιση των μεταβολικών διεργασιών των διαφόρων μικροοργανισμών με αποτέλεσμα τη συσσώρευση του οργανικού άνθρακα, του αζώτου και του φωσφόρου στην εκροή μιας ΕΕΛ. Τέλος, η ελεύθερη αμμωνία και το ελεύθερο νιτρώδες οξύ τα οποία είναι παράγωγα της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης σε συνδυασμό με άλλες παραμέτρους όπως το pH, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου και των νιτρωδών αποτελούν αναχαιτιστικούς ή ακόμα και τοξικούς παράγοντες στο μεταβολισμό των νιτροποιητικών και πολυφωσφορικών βακτηρίων (Zheng et al., 2014).

### 2.2 Βιολογική απομάκρυνση αζώτου στα λύματα

Η βιολογική απομάκρυνση αζώτου στα λύματα πραγματοποιείται μέσω της νιτροποίησης-απονιτροποίησης. Οι δύο αυτές βιολογικές διεργασίες πετυχαίνουν υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης αζώτου με αρκετά χαμηλότερο κόστος από τις φυσικοχημικές μεθόδους επεξεργασίας. Η διαδικασία της νιτροποίησης πραγματοποιείται σε δύο στάδια, όπου κατά το πρώτο στάδιο η αμμωνία (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) μετατρέπεται σε νιτρώδη (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) από τους οξειδωτές της αμμωνίας (ammoniaoxidising bacteria-AOB) και κατά το δεύτερο στάδιο τα νιτρώδη μετατρέπονται σε νιτρικά (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) από τους οξειδωτές των νιτρωδών (nitrite oxidizing bacteria-NOB) σε συνθήκες επαρκούς συγκέντρωσης διαλυμένου οξυγόνου. Η μετατροπή των νιτρωδών σε νιτρικά πραγματοποιείται πιο γρήγορα από τη μετατροπή του αμμωνιακού αζώτου σε νιτρώδη.

$$NH_4^+ \xrightarrow[]{\text{AOB}} NO_2^- \xrightarrow[]{\text{NOB}} NO_3^-$$

Η μετατροπή της αμμωνίας σε νιτρώδη πραγματοποιείται σε δύο στάδια με την υδροξυλαμίνη (NH<sub>2</sub>OH) ως ενδιάμεσο προϊόν. Στο πρώτο στάδιο το NH<sub>3</sub> και όχι το NH<sub>4</sub><sup>+</sup> αποτελεί το δότη ηλεκτρονίων και μετατρέπεται σε NH<sub>2</sub>OH μέσω του ενζύμου μονοξυγενάση της αμμωνίας (ammonia monooxygenase-AMO) σε μία ενδόθερμη αντίδραση.

$$NH_3 + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NH_2OH + H_2O$$

Έπειτα, η υδροξυλαμίνη οξειδώνεται σε νιτρώδη μέσω του ενζύμου οξειδοαναγωγάση της υδροξυλαμίνης (hydroxylamine oxidoreductase-HAO), αποσπώντας τέσσερα ηλεκτρόνια σε μία εξώθερμη αντίδραση. Από τη στοιχειομετρία της αντίδρασης φαίνεται ότι το ένα από τα άτομα του οξυγόνου στα νιτρώδη προέρχεται από το νερό και το δεύτερο από το μόριο του οξυγόνου.

$$NH_2OH + H_2O \rightarrow NO_2 + 5H^+ + 4e^-$$

Η διεργασία της νιτρωδοποίησης περιγράφεται από την παρακάτω αντίδραση:

$$NH_3 + 1.5O_2 \rightarrow NO_2^- + H^+$$
  
+  $H_2O \ (\Delta G = -275 \text{ kJ mol}^{-1}N)$ 

Δύο από τα ηλεκτρόνια που παράγονται κατά τη μετατροπή της υδροξυλαμίνης σε νιτρώδη παραχωρούνται στη μονοξυγενάση από την οξειδοαναγωγάση της υδροξυλαμίνης, μετατρέποντας το NH<sub>3</sub> σε NH<sub>2</sub>OH. Συνεπώς, μόνο δύο από τα ηλεκτρόνια περνούν μέσω μιας αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στην τελική οξειδάση, δημιουργώντας την πρωτονιεγερτική δύναμη. Η δημιουργία της πρωτονιεγερτικής δύναμης είναι απαραίτητη για την παραγωγή ενέργειας σε μορφή ATP από τους μικροοργανισμούς με σκοπό τη σύνθεση νέου κυτταρικού υλικού. Οι νιτροποιητές, όπως αποδεικνύεται και από τη στοιχειομετρία των

αντιδράσεων της νιτροποίησης παράγουν μικρές ποσότητες ATP και επομένως η αναπτυξιακή τους απόδοση είναι μικρή (Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2011, Ge et al., 2015, Sinha et al., 2007).

Κατά τη διεργασία της νιτροποίησης δεν οξειδώνεται ολόκληρη η ποσότητα του αμμωνιακού αζώτου, αλλά μέρος αυτού χρησιμοποιείται από τους νιτροποιητές για την ανάπτυξη της βιομάζας.

Η οξείδωση της αμμωνίας και η σύνθεση του νέου κυτταρικού υλικού κατά την νιτροποίηση περιγράφονται από την παρακάτω αντίδραση:

 $\begin{array}{l} \mathsf{NH}_4^+ + 1.83O_2 + 1.98\mathsf{HCO}_3^- \underline{\longrightarrow} 0.021C_5\mathsf{H}_7\mathsf{O}_2\mathsf{N} + 0.98\mathsf{NO}_3^- \\ &\quad + 1.041\mathsf{H}_2\mathsf{O} + 1.88\mathsf{H}_2\mathsf{CO}_3 \end{array}$ 

Από τη στοιχειομετρία της παραπάνω αντίδρασης προκύπτει ότι η ζήτηση σε αλκαλικότητα είναι 7,07 mg ανθρακικού ασβεστίου (CaCO<sub>3</sub>) ανά mg αμμωνιακού αζώτου (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) που οξειδώνεται τόσο για τη σύνθεση του κυτταρικού υλικού όσο και για την πλήρη νιτροποίηση. Η ζήτηση σε οξυγόνο είναι 3,16 mg O<sub>2</sub>/mg NH<sub>4</sub> που οξειδώνεται και 1,11 mg O<sub>2</sub>/mg NO<sub>2</sub> που οξειδώνεται. Η σύνθεση του νέου κυτταρικού υλικού ισούται με 0,15 mg κυτταρικού υλικού/mg NH<sub>4</sub> που οξειδώνεται και 0,02 mg κυτταρικού υλικού/mg NO<sub>2</sub> που οξειδώνεται. Συνεπώς, οι νιτροποιητές έχουν χαμηλό ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με τη ζήτηση σε διαλυμένο οξυγόνο. Το γεγονός αυτό καθιστά τη διαδικασία της πλήρους νιτροποίησης οικονομικά μη ωφέλιμη.

Η παραγωγή οξέος κατά τη νιτροποίηση (H<sup>+</sup>) τείνει να μειώνει σημαντικά την τιμή του pH. Ο ρυθμός της νιτροποίησης μειώνεται σημαντικά για τιμές του pH μικρότερες του 7 με αποτέλεσμα η προσθήκη εξωτερικής πηγής αλκαλικότητας, όπως ο ασβέστης να είναι αναγκαία σε ουδέτερο προς όξινο περιβάλλον. Συνεπώς, το κόστος της βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου αυξάνεται (Ahn 2006, Ge et al., 2015, Sinha et al., 2007).

Η διαδικασία της νιτροποίησης ολοκληρώνεται με το δεύτερο στάδιο όπου τα νιτρώδη, τα οποία προέκυψαν από τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης, μετατρέπονται σε νιτρικά παρουσία οξυγόνου. Η μετατροπή αυτή πραγματοποιείται μέσω του αποθηκευμένου ενζύμου οξειδοαναγωγάση του νιτρώδους (nitrite oxidoreductase-NOR) (Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2011, Sinha et al., 2007).

$$NO_2^- + H_2O \rightarrow NO_3^- + 2H^+ + 2e^-$$

Η συνολική αντίδραση της νιτροποίησης περιγράφεται παρακάτω (Sinha et al., 2007):

$$\begin{split} \mathrm{NH}_3 + \mathrm{2O}_2 &\to \mathrm{NO}_3^- + \mathrm{H}^+ \\ &+ \mathrm{H}_2\mathrm{O} \; (\Delta \mathrm{G} = 350 \, \mathrm{kJ} \; \mathrm{mol}^{-1}\mathrm{N}) \end{split}$$

Κατά την απονιτροποίηση τα νιτρικά ανάγονται σε νιτρώδη και έπειτα σε μοριακό άζωτο υπό αναερόβιες και στην ουσία ανοξικές συνθήκες, καθώς ο δέκτης ηλεκτρονίων είναι η οξειδωμένη μορφή του αζώτου. Η διαδικασία της απονιτροποίησης πραγματοποιείται από τα απονιτροποιητικά βακτήρια (Kornaros et al., 2010). Τα νιτρικά ανάγονται σε αέριο άζωτο μέσω διαφόρων ενζύμων με βάση τη παρακάτω σειρά:

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$

Αρχικά η αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη πραγματοποιείται μέσω του ενζύμου αναγωγάση του νιτρικού. Έπειτα τα νιτρώδη ανάγονται μέσω του ενζύμου αναγωγάση του νιτρώδους (nitrite reductase), προς οξείδιο του αζώτου. Το οξείδιο του αζώτου ανάγεται σε υποξείδιο του αζώτου μέσω της αναγωγάσης του οξειδίου του αζώτου. Τέλος, το υποξείδιο του αζώτου ανάγεται σε αέριο άζωτο μέσω του ενζύμου αναγωγάση του υποξείδιο του αζώτου. Η μεταφορά των ηλεκτρονίων δημιουργεί την πρωτονιεγερτική δύναμη η οποία συμβάλλει στην παραγωγή ΑΤΡ. Η ενεργειακή απόδοση σε ΑΤΡ είναι μεγαλύτερη στην πλήρη αλυσίδα αναγωγής των νιτρικών σε αέριο άζωτο, διότι το ένζυμο αναγωγάση του οξειδίου του αζώτου συνδέεται με την απελευθέρωση πρωτονίων τα οποία αυξάνουν την πρωτονιεγερτική δύναμη (Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2011). Στην περιβαλλοντική βιοτεχνολογία η απονιτροποίηση επιτυγχάνεται με την προσθήκη ποικίλων χημικών ενώσεων όπως μεθανόλη, γλυκόζη, οξικό οξύ, αιθανόλη κ.α. οι οποίες αποτελούν πηγές άνθρακα και ενέργειας για την ανάπτυξη των απονιτροποιητικών βακτηρίων. Η μεθανόλη (CH<sub>3</sub>OH) ως η πιο οικονομική πηγή άνθρακα και ενέργειας έχει ευρεία εφαρμογή στη διαδικασία της απονιτροποίησης (Ahn 2006).

Σημαντικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η διαδικασία της Anammox στη βιολογική απομάκρυνση αζώτου. Η συγκεκριμένη διεργασία πραγματοποιείται από αναερόβιους αυτοτροφικούς μικροοργανισμούς οι οποίοι μετατρέπουν το αμμωνιακό άζωτο σε αέριο άζωτο, χρησιμοποιώντας τα νιτρώδη ως ηλεκτρονιακό δέκτη και το αμμωνιακό άζωτο ως πηγή ενέργειας και άνθρακα. Βέβαια θα πρέπει να έχει προηγηθεί η διαδικασία της νιτρωδοποίησης, έτσι ώστε να έχει παραχθεί η απαραίτητη ποσότητα νιτρωδών. Ο συνδυασμός της νιτρωδοποίησης με την Anammox διαδικασία εφαρμόζεται σε πολλά βιολογικά συστήματα τα οποία επεξεργάζονται απόβλητα με υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου, όπως τα στραγγίδια αφυδάτωσης. Οι συγκεκριμένες διεργασίες μπορούν να μειώσουν τη ζήτηση σε αερισμό και εξωτερική πηγή οργανικού άνθρακα σε ποσοστό 60% και 100%, αντίστοιχα, αυξάνοντας το ρυθμό απομάκρυνσης αζώτου (Choi et al., 2019, Ge et al., 2015). Ωστόσο, ο συνδυασμός των παραπάνω μεθόδων απαιτεί τη λεπτομερή διερεύνηση των φυσικοχημικών παραμέτρων των προς επεξεργασία αποβλήτων, καθώς τα στραγγίδια αφυδάτωσης περιέχουν διάφορα οργανικά συστατικά, όπως τοξικές ουσίες, πτητικά λιπαρά οξέα, πρωτεΐνες υψηλού μοριακού βάρους και χουμικές ενώσεις τα οποία δίνουν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στους τυπικούς ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς έναντι των οξειδωτών της αμμωνίας (AOB) και των anammox βακτηρίων (Wang et al., 2020). Τέλος, η εφαρμογή της νιτρωδοποίησης σε συνδυασμό με τη διαδικασία της Anammox είναι περιορισμένη στις εγκαταστάσεις πλήρους κλίμακας, λόγω των παραγόμενων υποπροϊόντων με τη μορφή νιτρικών σε ποσοστό 11% τα οποία αυξάνουν τη συγκέντρωση του ολικού αζώτου και αναχαιτίζουν το μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων (Zhang et al., 2021).

## 2.2.1 Μεταβολισμός και μικροοργανισμοί εμπλεκόμενοι στην νιτροποίηση-απονιτροποίηση

Οι μικροοργανισμοί χρειάζονται ενέργεια για την επίτευξη των μεταβολικών τους αναγκών. Η ενέργεια αυτή προέρχεται από τις χημικές ενώσεις, όπως οι οργανικές ή οι ανόργανες και το ηλιακό φως. Η οξείδωση των διαφόρων χημικών ενώσεων οδηγεί στην παραγωγή ενέργειας υπό τη μορφή της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) (καταβολισμός) η οποία αποθηκεύεται στο εσωτερικό των κυττάρων των μικροοργανισμών με σκοπό την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων για την ανάπτυξη της βιομάζας και τη συντήρηση του κυττάρου (αναβολισμός). Οι διαχωρίζονται μικροοργανισμοί σε αερόβιους/αναερόβιους, χημειοτροφικούς/φωτοτροφικούς, οργανοτροφικούς/λιθοτροφικούς, ετεροτροφικούς/αυτοτροφικούς. Οι αερόβιοι χρησιμοποιούν το οξυγόνο ως ηλεκτρονιακό δέκτη και παράγουν ενέργεια, ενώ οι αναερόβιοι παράγουν ενέργεια απουσία οξυγόνου. Οι οργανικές ενώσεις αποτελούν την πηγή άνθρακα για τους ετεροτροφικούς και την πηγή ενέργειας για τους χημειοργανοτροφικούς. Αντιθέτως, οι ανόργανες ενώσεις, όπως το διοξείδιο του άνθρακα αποτελούν την πηγή άνθρακα για τους αυτοτροφικούς και την πηγή ενέργειας για τους χημειολιθοτροφικούς. Οι φωτοτροφικοί μικροοργανισμοί αντλούν την ενέργεια τους από την ηλιακή ακτινοβολία, ενώ οι χημειοτροφικοί από τις διάφορες χημικές ενώσεις. Όλοι οι χημειοργανοτροφικοί είναι ετερότροφοι και όλοι οι χημειολιθοτροφικοί και στην ουσία όλοι οι φωτότροφοι είναι αυτότροφοι μικροοργανισμοί (Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2011).

Οι διαφορετικές ομάδες των μικροοργανισμών ευθύνονται για την πραγματοποίηση των βιολογικών διεργασιών, όπως η νιτροποίηση- απονιτροποίηση, η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, έτσι ώστε να επιτευχθούν οι επιθυμητές συγκεντρώσεις θρεπτικών στην εκροή των ΕΕΛ. Γι'αυτό το λόγο, η ταυτοποίηση και η διερεύνηση της φυσιολογίας, του μεταβολισμού των διαφόρων μικροβιακών κοινοτήτων παίζουν καθοριστικό ρόλο στη δημιουργία των κατάλληλων συνθηκών για την ανάπτυξή τους. Οι μικροοργανισμοί μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση την τάξη, το γένος, το φύλο, τη χρώση κατά Gram, την κυτταρική δομή, τον κυτταρικό μεταβολισμό και τις ενεργειακές τους ανάγκες (Liu

et al., 2017). Η ταυτοποίηση και η κατάταξη των βακτηρίων στις διάφορες ομάδες βασίζεται στην εξαγωγή του DNA και του RNA με τη χρήση καλλιεργητικών και μη καλλιεργητικών μοριακών τεχνικών. Οι πλέον διαδεδομένες και αξιόπιστες μέθοδοι εντοπισμού και αναγνώρισης των βακτηρίων είναι η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR), η ηλεκτροφόρηση γέλης βαθμιδωτής μετουσίωσης (DGGE), ο in-situ υδριβισμός με φθορισμό (FISH). Επιπλέον, οι μη καλλιεργητικές μέθοδοι προσφέρουν εξοικονόμηση χρόνου, ακρίβεια κατά την πλήρη ταυτοποίηση των διαφορετικών ομάδων και ειδών των μικροοργανισμών (Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2011, Ge et al., 2015, Sinha et al., 2007).

νιτροποιητές ανήκουν στους αερόβιους χημειολιθοαυτοτροφικούς Οι μικροοργανισμούς οι οποίοι χρησιμοποιούν την αμμωνία ή τα νιτρώδη ως πηγή ενέργειας και το οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Επίσης, τα νιτροποιητικά βακτήρια δεσμεύουν το διοξείδιο του άνθρακα μέσω του κύκλου του Calvin και το χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα για τη σύνθεση νέου κυτταρικού υλικού (Sinha et al., 2007). Οι οξειδωτές της αμμωνίας μπορούν να διακριθούν βάση της μορφολογίας του κυττάρου τους και της χρώσης τους κατά Gram. Τα ΑΟΒ ανήκουν στα Gram αρνητικά βακτήρια. Το γένος Nitrosomonas είναι το πιο αναγνωρισμένο γένος των AOB κατά τη μετατροπή της αμμωνίας σε νιτρώδη (Peng et Zhu, 2006). Ακόμη, τα γένη Nitrosococcus, Nitrosopira, Nitrosovibrio και Nitrosolobus έχουν ταυτοποιηθεί ως οξειδωτές της αμμωνίας. Αν και τα παραπάνω γένη διαφέρουν γενετικά, έχουν ομαδοποιηθεί στη β-τάξη του φύλου Proteobacteria. Τα γένη Nitrobacter, Nitrospira, Nitrospina, Nitrococcus και Nitrocystis έχουν ταυτοποιηθεί ως οξειδωτές των νιτρωδών. Ωστόσο, το πιο σύνηθες είναι το γένος Nitrobacter (Peng et Zhu, 2006) το οποίο γενετικά σχετίζεται με την α-τάξη του φύλου Proteobacteria (Ahn 2006, Ge et al., 2015). Το γένος Nitrobacter εντοπίζεται κυρίως σε βιοαντιδραστήρες εργαστηριακής κλίμακας, ενώ το γένος Nitrospira κυριαρχεί σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας πλήρους κλίμακας (Zhou et al., 2011, Kim et al., 2006).

Το γένος Nitrospira είναι αυστηρά αερόβιο, χημειολιθοαυτοτροφικό και η ανάπτυξή του ευνοείται σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών. Σύμφωνα με διάφορες έρευνες, τα υπόλοιπα νιτροποιητικά βακτήρια, όπως το γένος Nitrobacter έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιούν τις οργανικές ενώσεις, εκτός από τα
νιτρώδη, ως πηγή ενέργειας. Τα γένη των νιτροποιητικών βακτηρίων μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση τη σχέση μεταξύ του ρυθμού αντίδρασης και της συγκέντρωσης του διαθέσιμου υποστρώματος (αμμωνιακό άζωτο, νιτρώδη). Η σχέση αυτή βασίζεται στη συγγένεια των νιτροποιητικών βακτηρίων με το διαθέσιμο υπόστρωμα. Τα βακτήρια του γένους Nitrospira έχουν υψηλή συγγένεια υποστρώματος και χαμηλό μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης (k-strategists). Αντιθέτως, το γένος Nitrobacter έχει μικρή συγγένεια υποστρώματος και υψηλό ρυθμό αντίδρασης (r-strategists) με αποτέλεσμα το γένος Nitrospira να κυριαρχεί έναντι του γένους Nitrobacter σε συνθήκες περιορισμένης συγκέντρωσης νιτρωδών. Ο διαχωρισμός αυτός μπορεί να εξηγήσει τη συνύπαρξη του γένους Nitrospira και Nitrobacter σε ένα βιολογικό σύστημα επεξεργασίας λυμάτων με προσωρινές συνθήκες υψηλών συγκεντρώσεων νιτρωδών. Επομένως, η παρουσία ή η επικράτηση του γένους Nitrobacter και Nitrospira εξαρτάται από τη φυσιολογία τους και τις λειτουργικές παραμέτρους του συστήματος επεξεργασίας. Τέλος, η συνύπαρξη των δύο αυτών βακτηρίων πιθανώς να επιφέρει αύξηση του ρυθμού νιτροποίησης, μειώνοντας τη συγκέντρωση των νιτρωδών στο βιοαντιδραστήρα (Sinha et al., 2007, Kim et al., 2006).

Οι Liu et al., 2017 χρησιμοποίησαν βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με εναλλαγή αναερόβιων/αερόβιων/ανοξικών συνθηκών λειτουργίας (Α/Ο/Α) με σκοπό την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου από αστικά λύματα με χαμηλό λόγο C/N. Ο βιοαντιδραστήρας τύπου SBR πέτυχε συνολική απομάκρυνση αζώτου, φωσφόρου και οργανικού άνθρακα σε ποσοστό 88,8%, 99,3% και 81,2%, αντίστοιχα, μέσω της ταυτόχρονης νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης, της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου και της ανοξικής απονιτροποίησης με προσθήκη εξωτερικής πηγής άνθρακα. Η κατανομή των βακτηρίων πραγματοποιήθηκε με βάση το φύλο και την τάξη μέσω των τεχνικών αλληλούχισης και έδειξε ότι τα AOB και συγκεκριμένα το γένος *Nitrosomonas* ήταν υπεύθυνο για την οξείδωση της τάξης του 0,01%, λόγω της επίτευξης της νιτρωδοποίησης. Επίσης, το γένος *Accumulibacter* το οποίο ανήκει στην ομάδα των πολυφωσφορικών βακτηρίων (PAOs) ήταν υπεύθυνο για την αερόβια πρόσληψη φωσφόρου.

Н απονιτροποίηση πραγματοποιείται από τους ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς οι οποίοι χρησιμοποιούν τα νιτρικά ή τα νιτρώδη ως δέκτες ηλεκτρονίων και τις οργανικές ενώσεις ως πηγή άνθρακα και ενέργειας υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Κατά την απονιτροποίηση, τα νιτρικά ή τα νιτρώδη μετατρέπονται σε αέριο άζωτο (N2) από τους ετεροτροφικούς απονιτροποιητικούς μικροοργανισμούς. Τα γένη Pseudomonas, Alcaligenes, Paracoccus, και Thiobacillus έχουν ταυτοποιηθεί ως απονιτροποιητικά βακτήρια. Οι απονιτροποιητές είναι αρνητικά κατά Gram βακτήρια και ανήκουν στην α- και β-τάξη του φύλου Proteobacteria. Ωστόσο, μερικά θετικά κατά Gram βακτήρια, όπως το γένος Bacillus και κάποια αλοφιλικά Αρχαία, όπως το γένος Halobacterium είναι ικανά να απονιτροποιήσουν (Ahn et al., 2006).

Σύμφωνα με τους Liu et al., 2017, τα γένη Parcubacteria, Chitinophagaceae, Hydrogenophilaceae, Xanthomonadaceae, Denitratisoma, Dechloromonas, Thauera και Ottowia ταυτοποιήθηκαν ως ετεροτροφικοί απονιτροποιητικοί μικροοργανισμοί. Μερικά από τα παραπάνω βακτήρια έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στην υδρόλυση του δυσκολοδιασπάσιμου οργανικού υλικού με αποτέλεσμα τη παροχή επαρκούς πηγής άνθρακα για την επίτευξη της ενδογενούς απονιτροποίησης, εξαιτίας του χαμηλού λόγου C/N των εισερχόμενων λυμάτων.

Οι Zhang et al., 2021 επεξεργάστηκαν συνθετικά λύματα με χαμηλό λόγο C/N μέσω της νιτρωδοποίησης, της ανοξικής απομάκρυνσης φωσφόρου και της anammox διαδικασίας σε αναερόβιο βιοαντιδραστήρα συνεχούς ροής. Επίσης, διερεύνησαν τη μικροβιακή δραστηριότητα στη βιομάζα του βιοαντιδραστήρα. Τα γένη *Thauera, Paracoccus και Denitratisoma* ήταν υπεύθυνα για την ετεροτροφική απονιτροποίηση υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Το γένος *Nitrosomonas* επικράτησε έναντι του γένους *Nitrospira,* επαληθεύοντας την αναχαίτιση των NOB κατά τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης. Τα γένη *Candidatus Brocadia, Candidatus Kuenenia και Candidatus Jettenia* αναγνωρίστηκαν κατά τη διαδικασία της φύλο Planctomycetes. Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου πραγματοποιήθηκε κυρίως από τα γένη *Dechloromonas, Pseydomonas, Aeromonas* και *Flavobacterium* τα οποία ανήκουν στο φύλος του γένους στο έμφάνισης του γένους *Candidatus* 

Accumulibacter των πολυφωσφορικών βακτηρίων (PAOs) ήταν αρκετά πιο μικρό από αυτό των DPAOs. Ωστόσο, τα γένη Defluviicuccus και Candidatus Competibacter, τα οποία ανήκουν στην ομάδα των GAOs, εντοπίστηκαν στη βιομάζα του βιοαντιδραστήρα κατά την ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου, εξαιτίας της αναχαίτισης των DPAOs από τη συγκέντρωση των νιτρωδών (20 mg/L).

# 2.3 Νιτρωδοποίηση-Απονιτρωδοποίηση και στρατηγικές επίτευξης των κατάλληλων συνθηκών για τη νιτρωδοποίηση

Η επίτευξη των επιθυμητών συγκεντρώσεων των θρεπτικών στην εκροή των Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Λυμάτων αποτελεί βασική προϋπόθεση για την ασφαλή διάθεση του υπερκείμενου υγρού από τη δεξαμενή τελικής καθίζησης στους φυσικούς αποδέκτες ή την επαναχρησιμοποίηση της περίσσειας ιλύος. Επίσης, η μείωση της κατανάλωσης εξωτερικής πηγής άνθρακα αποτελεί πρόκληση για την επεξεργασία αποβλήτων με υψηλό φορτίο αμμωνιακού αζώτου και χαμηλή συγκέντρωση οργανικού υλικού. Η τυπική διαδικασία της νιτροποίησηςαπονιτροποίησης έχει αρκετά χαμηλότερο κόστος από τις φυσικοχημικές μεθόδους επεξεργασίας. Ωστόσο, η συγκεκριμένη μέθοδος απαιτεί υψηλή κατανάλωση ενέργειας για αερισμό, προσθήκη εξωτερικής πηγής άνθρακα και αλκαλικότητας, ενώ υπάρχει η πιθανότητα εκπομπής διοξειδίου του αζώτου (N2O). Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης αποτελεί μία ενεργειακά ωφέλιμη μέθοδο για την απομάκρυνση του αζώτου με την ελάχιστη απαίτηση σε οργανικό άνθρακα και διαλυμένο οξυγόνο. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην αναχαίτιση του δεύτερου σταδίου της νιτροποίησης με αποτέλεσμα η βιομάζα των ΝΟΒ να απομακρύνεται από το σύστημα επεξεργασίας.

Τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η διαδικασία της νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης είναι (Peng et Zhu, 2006, Liu et al., 2020, Sinha et al., 2007, Ge et al., 2015):

 Η μείωση της ζήτησης σε διαλυμένο οξυγόνο κατά 25% οδηγεί σε συνολική εξοικονόμηση ενέργειας 60%.

- Η μείωση της κατανάλωσης πηγής άνθρακα κατά 40%, η οποία μπορεί να φτάσει και το 100% κατά την ανοξική φάση λειτουργίας.
- Ο ρυθμός της απονιτρωδοποίησης είναι μία έως δύο φορές υψηλότερος από αυτόν της απονιτροποίησης.
- Ο όγκος του αντιδραστήρα μειώνεται, εξαιτίας του μικρότερου υδραυλικού χρόνου παραμονής.
- Οι εκπομπές του διοξειδίου του άνθρακα μειώνονται κατά 20%.
- Η παραγωγή της περίσσειας ιλύος μειώνεται περίπου στο 33-35% κατά την νιτρωδοποίηση και στο 55% κατά την απονιτρωδοποίηση.

Η υψηλή συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα αναχαιτίζει την ανάπτυξη των νιτροποιητών, λόγω του ανταγωνισμού μεταξύ των αυτοτροφικών και των ετεροτροφικών βακτηρίων κατά την αερόβια φάση λειτουργίας. Τα ΑΟΒ αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των τυπικών ετεροτροφικών βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρες με υψηλή συγκέντρωση υποστρώματος (αμμωνιακό άζωτο). Γι'αυτό το λόγο, η διαδικασία της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης είναι τεχνικά εφικτή και οικονομικά ωφέλιμη σε συστήματα βιολογικής επεξεργασίας λυμάτων με χαμηλό λόγο C/N (Peng et Zhu, 2006, Liu et al., 2020, Ge et al., 2015, Wang et al., 2014). Επίσης, τα ένζυμα τα οποία είναι υπεύθυνα για την επίτευξη των βιοχημικών αντιδράσεων της νιτροποίησης επηρεάζονται από την πηγή προέλευσης του οργανικού άνθρακα. Οι Kim et al., 2006 παρατήρησαν ότι ο ρυθμός συσσώρευσης των νιτρωδών ήταν μεγαλύτερος κατά την επεξεργασία των συνθετικών λυμάτων συγκριτικά με αυτόν κατά την επεξεργασία των στραγγιδίων Χ.Υ.Τ.Α. Επιπλέον, η οξείδωση των νιτρωδών σε νιτρικά είναι πιθανό να επηρεαστεί από τη χαμηλή συγκέντρωση φωσφόρου, λόγω των διαφορετικών συντελεστών ημικορεσμού των AOB (0,03 mg P/L) και των NOB (0,2 mg P/L) (Ge et al., 2015). Ωστόσο, η απότομη αύξηση της συγκέντρωσης φωσφόρου μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης. Οι Peng et Zhu, 2006 ανέφεραν ότι ο ρυθμός οξείδωσης των νιτρωδών μειώθηκε, καθώς η συγκέντρωση του ολικού φωσφόρου αυξήθηκε από 0 σε 15,5 mg P/L.

Οι μεταβολικές διεργασίες των ποικίλων μικροοργανισμών, οι οποίοι βιομάζα των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας, συνυπάρχουν στη επηρεάζονται σε διαφορετικό βαθμό από τη μεταβολή των φυσικοχημικών και λειτουργικών παραμέτρων (Liu et al., 2020). Το pH, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου, ο χρόνος παραμονής των στερεών, η διάρκεια του χρόνου αερισμού, η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA-HNO2) και της ελεύθερης αμμωνίας (FA-NH3) παίζουν καθοριστικό ρόλο στην κινητική ανάπτυξης των διαφόρων βακτηρίων. Γι΄ αυτό το λόγο, η επίτευξη των κατάλληλων συνθηκών λειτουργίας για την αναχαίτιση των ΝΟΒ και την παραμονή της υπόλοιπης μικροβιακής κοινότητας στη βιομάζα του βιοαντιδραστήρα αποτελεί την κύρια πρόκληση για το σχεδιασμό των σύγχρονων συστημάτων βιολογικής απομάκρυνσης θρεπτικών (Park et al., 2010, Liu et al., 2017, Sinha et al., 2007). Σύμφωνα με αρκετές πειραματικές μελέτες, η συγκέντρωση της FA και του FNA αποτελεί τον κύριο αναχαιτιστικό ή ακόμη και τοξικό παράγοντα στο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων (PAOs), των νιτροποιητών (AOB, NOB), των απονιτροποιητών, των anammox βακτηρίων, των μεθανογόνων (Zhang et al., 2021, Zhou et al., 2011, Zheng et al., 2013).

Η ελεύθερη αμμωνία και το ελεύθερο νιτρώδες οξύ παράγονται κατά τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Αρχικά, το οργανικό άζωτο των λυμάτων μετατρέπεται σε αμμωνία μέσω της αερόβιας βιολογικής αμμωνιοποίησης. Έπειτα, η αμμωνία διαιρείται στην ιονισμένη (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (NH<sub>3</sub>). Κατά την απονιτροποίηση παράγεται βάση (OH<sup>-</sup>) η οποία σε συνδυασμό με το αμμώνιο σχηματίζουν την ελεύθερη αμμωνία (NH<sub>3</sub>) (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + OH<sup>-</sup>→ NH<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O). Επίσης, η τιμή του pH αυξάνεται με την παραγωγή της αλκαλικότητας (OH<sup>-</sup>). Η μεταβολή του pH διαταράσσει την ισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων του NH<sub>4</sub><sup>+</sup> και της NH<sub>3</sub> (Sinha et al., 2007, Ge et al., 2015). Όπως φαίνεται σε αλκαλικό περιβάλλον και ταυτόχρονα εξαρτάται από τη συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου και τη θερμοκρασία στο ανάμεικτο υγρό (Anthonisen et al., 1976):

$$\mathsf{FA} = \frac{17 \mathsf{S}_{\mathsf{NH4-N}} \mathbf{10}^{\mathsf{pH}}}{\mathbf{14} (\mathsf{e}^{\mathbf{6344}/(273+T)} + \mathbf{10}^{\mathsf{pH}})}$$

Κατά τη νιτροποίηση παράγονται ιόντα υδρογόνου (H<sup>+</sup>) τα οποία τείνουν να μειώνουν το pH. Τα νιτρώδη σε συνδυασμό με το ιόν του υδρογόνου που παράγεται από την οξείδωση της αμμωνίας σχηματίζουν το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (HNO<sub>2</sub>) (H<sup>+</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>→ HNO<sub>2</sub>). Η συγκέντρωση του HNO<sub>2</sub> αυξάνεται σε ουδέτερο προς όξινο pH (Sinha et al., 2007, Ge et al., 2015). Επίσης, η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος εξαρτάται από τη συγκέντρωση των νιτρωδών και τη θερμοκρασία στο ανάμεικτο υγρό και υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο (Anthonisen et al., 1976):

 $\text{FNA} = \frac{47 S_{\text{NO2-N}}}{14 (e^{-2300/(273+T)} 10^{\text{pH}} + 1)}$ 

Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης μπορεί να επιτευχθεί μέσω της συγκέντρωσης της FA και του FNA σε συστήματα επεξεργασίας αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου (500-1.500 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L) (Duan et al., 2018). Ωστόσο, η επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στο μεταβολισμό των νιτροποιητικών βακτηρίων εξαρτάται από τους περιβαλλοντικούς και λειτουργικούς παράγοντες, όπως το pH, η θερμοκρασία, η διαθέσιμη συγκέντρωση υποστρώματος (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub>), ο χρόνος παραμονής των στερεών, το διαλυμένο οξυγόνο, κ.α. (Anthonisen et al., 1976, Park et al., 2010, Frison et al., 2014, Zhang et al., 2021).

Οι Zhang et al., 2021 παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση της παραγόμενης ελεύθερης αμμωνίας (FA) δεν έδωσε ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα AOB έναντι των NOB κατά την επεξεργασία αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου. Έτσι, η τιμή του pH αυξήθηκε στο 8 με σκοπό την αύξηση της συγκέντρωσης της FA. Η αναχαίτιση των NOB επιτεύχθηκε για συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας μεταξύ 0,1 και 1 mg NH<sub>3</sub>/L και για pH ίσο με 8. Οι Frison et al., 2014 και οι Duan et al., 2020 πέτυχαν σταθερή νιτρωδοποίηση με υψηλό ρυθμό συσσώρευσης νιτρωδών για συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας μεγαλύτερη του 1 mg NH<sub>3</sub>/L.

Η τιμή του pH επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό τις μεταβολικές διεργασίες των νιτροποιητικών βακτηρίων. Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης μπορεί να αναχαιτιστεί πλήρως για pH μικρότερο του 6,5. Επίσης, η απότομη αύξηση του pH (pH>8,5) επηρεάζει το μεταβολισμό των AOB και οδηγεί σε αύξηση της κατανάλωσης της αλκαλικότητας με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της διαδικασίας της νιτρωδοποίησης. Η βέλτιστη τιμή του pH για την αναχαίτιση των NOB και την επικράτηση των AOB είναι μεταξύ 7,5 και 8 (Duan et al., 2020). Όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω, το pH επηρεάζει άμεσα τη συγκέντρωση της FA και του FNA. Οι Anthonisen et al., 1976 ανέφεραν ότι τα AOB αναχαιτίζονται σε συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας μεταξύ 10 και 150 mg NH<sub>3</sub>/L. Αντιθέτως, τα NOB αναχαιτίζονται σε πολύ μικρότερες συγκέντρωσεις της FA μεταξύ 0,1 και 1 mg NH<sub>3</sub>/L.

Η συγκέντρωση του FNA αυξάνεται με τη μείωση του pH με αποτέλεσμα το FNA να αποτελεί τον κύριο αναχαιτιστικό παράγοντα στο μεταβολισμό των νιτροποιητών για pH μικρότερο του 7,5. Τα NOB είναι πιο ευαίσθητα από τα AOB στο FNA. Τα NOB αναχαιτίζονται σε συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος μεταξύ 0,011 και 0,07 mg HNO<sub>2</sub>/L, ενώ η πλήρη αναχαίτιση τους παρατηρείται σε συγκέντρωση μεταξύ 0,026 και 0,22 mg HNO<sub>2</sub>/L. Οι Zhou et al., 2011 παρατήρησαν ότι το γένος Nitrospira είναι πιο ευαίσθητο από το γένος Nitrobacter στο FNA. Το γένος Nitrospira δεν είχε τη δυνατότητα να χρησιμοποιήσει το οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων σε συγκέντρωση ίση με 0,03 mg HNO<sub>2</sub>/L. Αντιθέτως, το 50% της μικροβιακής δραστηριότητας των AOB αναχαιτίζεται σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0,42 και 1,72 mg HNO<sub>2</sub>/L (Ge et al., 2015, Zhou et al. 2011). Σύμφωνα με τους Peng et Zhu, 2006, η μετατροπή των νιτρωδών σε νιτρώδες οξύ μειώνεται κατά δύο τάξεις μεγέθους για pH μεγαλύτερο του 7, με αποτέλεσμα τα NOB να αναχαιτίζονται κυρίως από τη συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας σε αλκαλικό περιβάλλον. Ωστόσο, η ελεύθερη αμμωνία φαίνεται να είναι λιγότερο τοξική από το ελεύθερο νιτρώδες οξύ στο μεταβολισμό των ΝΟΒ. Σύμφωνα με διάφορες βιβλιογραφικές πηγές, τα ΝΟΒ μπορούν να ανακάμψουν έπειτα από μία περίοδο εγκλιματισμού της βιομάζας στις υψηλές συγκεντρώσεις FA (40 mg NH<sub>3</sub>/l) (Sinha et al., 2007). Ωστόσο, ο εγκλιματισμός των NOB στο FNA μπορεί να πραγματοποιηθεί σε χαμηλή

συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος (μικρότερη από 1,35 mg FNA/L) σε συνδυασμό με την εφαρμογή μεγάλου χρόνου παραμονής στερεών (SRT) για μακροχρόνιες συνθήκες λειτουργίας ενός συστήματος επεξεργασίας (Duan et al., 2018, Zheng et al., 2021).

Η χρήση των βιοαντιδραστήρων τύπου SBR με εναλλαγή αερόβιων/ανοξικών συνθηκών λειτουργίας ευνοεί την απόδοση της νιτρωδοποίησης, καθώς δημιουργεί τις βέλτιστες συνθήκες για την επικράτηση των ΑΟΒ έναντι των ΝΟΒ. Η διαδικασία της απονιτρωδοποίησης είναι απαραίτητη για την παραγωγή της αλκαλικότητας και την αποκατάσταση του pH, έπειτα από τη μείωσή του κατά τη νιτρωδοποίηση. Υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας, οι απονιτροποιητές απομακρύνουν πλήρως τα συσσωρευμένα νιτρώδη που παράγονται κατά τη νιτρωδοποίηση με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος να διατηρείται χαμηλή στον επόμενο κύκλο λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα. Επίσης, η απομάκρυνση των νιτρωδών κατά την απονιτρωδοποίηση μειώνει την πιθανότητα εκπομπής του N2O. Η αναγωγή των νιτρωδών σε αέριο άζωτο προσφέρει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα AOB έναντι των NOB, καθώς η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου είναι μεγαλύτερη από αυτή των νιτρωδών στα πρώτα λεπτά της αερόβιας φάσης του επόμενου κύκλου λειτουργίας του αντιδραστήρα. Οι βιοαντιδραστήρες τύπου SBR διαθέτουν απλή λειτουργία και ευελιξία στην εναλλαγή των συνθηκών λειτουργίας, καθώς η λυμάτων επεξεργασία των εισερχόμενων και της περίσσειας ιλύος πραγματοποιείται στον ίδιο βιοαντιδραστήρα. Ακόμη, η εφαρμογή κύκλων λειτουργίας ευνοεί την απομάκρυνση των θρεπτικών και μειώνει το συνολικό υδραυλικό χρόνο παραμονής στους βιοαντιδραστήρες τύπου SBR (Liu et al., 2020). Επίσης, ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των ΑΟΒ είναι μεγαλύτερος από αυτόν των ΝΟΒ σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης υποστρώματος και διαλυμένου οξυγόνου. Συνεπώς, τα ΑΟΒ μπορούν να ανακάμψουν πιο γρήγορα έπειτα από τις ανοξικές συνθήκες λειτουργίας (Roots et al., 2020, Ge et al., 2015).

Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου (Dissolved Oxygen-DO) επηρεάζει το ρυθμό ανάπτυξης των ΑΟΒ και των ΝΟΒ. Ωστόσο, τα ΑΟΒ είναι πιο ανθεκτικά στις χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου, καθώς ο συντελεστής ημικορεσμού των ΑΟΒ και των ΝΟΒ είναι 0,2-0,4 mg O<sub>2</sub>/L και 1,2-1,5 mg O<sub>2</sub>/L, αντίστοιχα. Η

συγκέντρωση του DO καθορίζεται από τη συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα και των θρεπτικών στο ανάμεικτο υγρό κατά την αερόβια φάση λειτουργίας. Συγκεκριμένα, η ζήτηση σε διαλυμένο οξυγόνο εξαρτάται από τις μεταβολικές ανάγκες των μικροοργανισμών οι οποίοι επιτελούν τις βιολογικές διεργασίες για την πλήρη απομάκρυνση αζώτου, φωσφόρου και οργανικού άνθρακα. Έτσι, ο μη επαρκής αερισμός μπορεί να οδηγήσει στη μείωση του ρυθμού νιτροποίησης και στη δημιουργία νηματοειδούς διόγκωσης της λάσπης (Ge et al., 2015, Peng et Zhu, 2006).

Η επίτευξη της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης μπορεί να επιτευχθεί μέσω της εφαρμογής ενός on-line συστήματος παρακολούθησης των συγκεντρώσεων αμμωνιακού αζώτου, νιτρωδών και νιτρικών στο ανάμεικτο υγρό. Ωστόσο, η παρακολούθηση των φυσικοχημικών παραμέτρων απαιτεί υψηλό επενδυτικό κόστος. Η on-line παρακολούθηση του pH, του διαλυμένου οξυγόνου και του δυναμικού οξείδωσης (Oxido-reduction potential-ORP) αποτελεί μία εύκολη και οικονομική μέθοδο για τον προσδιορισμό του αερόβιου χρόνου λειτουργίας με σκοπό την επίτευξη της νιτρωδοποίησης. Το pH, το DO και το ORP είναι έμμεσες παράμετροι οι οποίες μπορούν να υποδείξουν το τέλος των βιολογικών διεργασιών (νιτροποίηση-απονιτροποίηση), έτσι ώστε να αποφευχθεί ο παρατεταμένος αερισμός και κατ επέκταση η μετατροπή των νιτρωδών σε νιτρικά. Η μείωση του pH, λόγω της κατανάλωσης της αλκαλικότητας για τη κάλυψη των αναγκών της νιτρωδοποίησης και η ραγδαία αύξηση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου υποδεικνύουν την πλήρη απομάκρυνση του αμμωνιακού αζώτου. Επίσης, το δυναμικό οξείδωσης αυξάνεται με σταθερό ρυθμό κατά την απομάκρυνση του αμμωνιακού αζώτου και παρουσιάζει μείωση με την ολοκλήρωση της νιτρωδοποίησης. Κατά την απονιτρωδοποίηση, η τιμή του pH αυξάνεται συνεχώς, ενώ το ORP μειώνεται κατά την πλήρη απομάκρυνση των νιτρωδών/νιτρικών (Peng et Zhu 2006, Romain Lemaire 2007). Η λειτουργία των βιοαντιδραστήρων τύπου SBR επιτρέπει την εναλλαγή αναερόβιων, αερόβιων, ανοξικών συνθηκών λειτουργίας, εφαρμόζοντας συγκεκριμένο αριθμό κύκλων λειτουργίας με καθορισμένη διάρκεια, καθώς απομάκρυνση των θρεπτικών πραγματοποιείται στον ίδιο η βιοαντιδραστήρα. Συνεπώς, η χρήση ενός on-line συστήματος παρακολούθησης

προσφέρει περαιτέρω αυτοματοποίηση στα μονοβάθμια συστήματα επεξεργασίας (Ge et al., 2015, Liu et al., 2017, Liu et al., 2020, Romain Lemaire 2007). Σύμφωνα με διάφορες πειραματικές μελέτες, η υπολειμματική συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου (10-20 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L) στην εκροή του βιοαντιδραστήρα εξασφαλίζει την ύπαρξη επαρκούς συγκέντρωσης ελεύθερης αμμωνίας στον επόμενο κύκλο λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με σκοπό την αναχαίτιση των NOB και τη σταθερή απόδοση της νιτρωδοποίησης (Joss et al., 2009, Yuan et al., 2020).

Η μεταβολή του χρόνου παραμονής των στερεών (Sludge Retention Time-SRT) και του συνολικού υδραυλικού χρόνου παραμονής (Hydraulic Retention Time-HRT) επηρεάζει την ανάπτυξη της μικροβιακής κοινότητας ενός βιολογικού συστήματος επεξεργασίας. Τα NOB αναχαιτίζονται για πολύ μικρότερο SRT από τα AOB, καθώς ο ελάχιστος χρόνος διπλασιασμού των ΑΟΒ και των ΝΟΒ είναι 7-8h και 10-13h, αντίστοιχα (Ge et al., 2015). Επίσης, οι Yuan et al., 2020 ανέφεραν ότι ο κατάλληλος SRT για τα NOB είναι 32 ημέρες, ενώ για τα AOB 15 ημέρες σε θερμοκρασία 29±1°C. Ακόμη, η μεγάλη διάρκεια της αερόβιας φάσης λειτουργίας και επομένως ο μεγάλος υδραυλικός χρόνος παραμονής ευνοούν την ανάπτυξη των ΝΟΒ. Έτσι, η μείωση του SRT και του συνολικού HRT σε συνδυασμό με τη ρύθμιση άλλων παραμέτρων, όπως το DO, η FA και το FNA αποτελούν μία αποτελεσματική μέθοδο για την επικράτηση των ΑΟΒ έναντι των ΝΟΒ σε βιοαντιδραστήρες τύπου SBR με ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου. Σύμφωνα με διάφορες βιβλιογραφικές αναφορές, τα πολυφωσφορικά βακτήρια απαιτούν μικρότερο SRT (13±4 ημέρες) από τους νιτροποιητές (15-32 ημέρες) για την ανάπτυξη της βιομάζας τους (Yuan et al., 2020). Οι Roots et al., 2020 παρατήρησαν ότι ο ρυθμός της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs ήταν μεγαλύτερος από το ρυθμό της νιτρωδοποίησης, αποδεικνύοντας ότι η μείωση του SRT και του HRT για την επικράτηση των ΑΟΒ δεν επηρεάζει το μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Οι Yuan et al., 2020 πέτυχαν σταθερή νιτρωδοποίηση και βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR, εφαρμόζοντας μικρό χρόνο παραμονής στερεών (12 ημέρες), χαμηλή συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου (DO<1,5 mg/L) και υπολειμματική συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στο τέλος της αερόβιας φάσης λειτουργίας.

Ο ρυθμός ανάπτυξης των νιτροποιητικών βακτηρίων αυξάνεται εκθετικά με την αύξηση της θερμοκρασίας και συνήθως εκφράζεται μέσω της μαθηματικής σχέσης Arrhenius. Σύμφωνα με τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, τα ΑΟΒ επικρατούν έναντι των NOB σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 25°C. Αντιθέτως, τα NOB αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των ΑΟΒ σε θερμοκρασίες μικρότερες των 15°C (Peng et Zhu, 2006). Η επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη των νιτροποιητικών βακτηρίων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως οι περιβαλλοντικές, λειτουργικές παράμετροι του συστήματος επεξεργασίας, η συγκέντρωση των θρεπτικών στα προς επεξεργασία απόβλητα. Η συγκέντρωση της FA επηρεάζει άμεσα το μεταβολισμό των ποικίλων μικροοργανισμών σε ένα βιολογικό σύστημα επεξεργασίας το οποίο λειτουργεί σε υψηλή θερμοκρασία και συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου. Τα ΝΟΒ μπορούν να αναχαιτιστούν σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες (15-20°C) για συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας μεγαλύτερη από 1 mg NH<sub>3</sub>/l. Οι Kim et al., 2006 παρατήρησαν ότι η υψηλή θερμοκρασία αυξάνει το ρυθμό νιτροποίησης με αποτέλεσμα η πλήρης νιτροποίηση να πραγματοποιείται σε θερμοκρασία ίση με 20°C. Αντιθέτως, η νιτροποίηση αναχαιτίστηκε πλήρως σε θερμοκρασία μικρότερη των 5°C. Επίσης, η απότομη αύξηση της εισερχόμενης συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου οδήγησε στη συσσώρευση της ελεύθερης αμμωνίας (68 mg NH<sub>3</sub>/L) με αποτέλεσμα την αναχαίτιση τόσο των ΑΟΒ όσο και των ΝΟΒ σε θερμοκρασία 25°C. Τα ΑΟΒ κατάφεραν να ανακάμψουν, έπειτα από την έκθεσή τους σε συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας ίση με 16 mg NH<sub>3</sub>/L στους 5°C, ενώ τα NOB παρέμειναν πλήρως αναχαιτισμένα. Ωστόσο, η συνεχής έκθεση της βιομάζας στις υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου οδήγησε στην επίτευξη της πλήρους νιτροποίησης σε θερμοκρασία περίπου ίση με 28°C. Τέλος, οι Yuan et al., 2020 παρατήρησαν ότι η μείωση της θερμοκρασίας του ανάμεικτου υγρού από τους 27 στους 19 °C οδήγησε στο ξέπλυμα της βιομάζας του βιοαντιδραστήρα με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου. Η περίσσεια συγκέντρωση του DO ευνόησε την ανάπτυξη των NOB.

Η προσαρμογή των φυσικοχημικών και λειτουργικών παραμέτρων για την αναχαίτιση των NOB εχει άμεση επίδραση στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου

σε βιοαντιδραστήρες με ταυτόχρονη απομάκρυνση θρεπτικών. Αρκετές μελέτες προτείνουν την εφαρμογή διβάθμιων συστημάτων επεξεργασίας με σκοπό την ξεχωριστή απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου. Ωστόσο, τα συστήματα αυτά έχουν υψηλό κατασκευαστικό και λειτουργικό κόστος, καθώς απαιτούν την κατασκευή περισσότερων μονάδων, την προσθήκη εξωτερικής πηγής άνθρακα και την κατασκευή ενδιάμεσων δεξαμενών καθίζησης. Συνεπώς, η λεπτομερής διερεύνηση της επίδρασης των διαφόρων παραμέτρων στην ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων αποτελεί βασική προϋπόθεση για το σχεδιασμό ενός τύπου SBR (Ανδρεαδάκης, 2015, Roots et al., 2020).

# 2.4 Βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου

### 2.4.1 Γενικά

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου (Enhanced Biological Phosphorus Removal-EBPR) έχει ευρεία εφαρμογή και αποτελεί μία περιβαλλοντικά βιώσιμη μέθοδο διαφύλαξης των φυσικών υδάτων από το φαινόμενο του ευτροφισμού. Η εφαρμογή αυτής της μεθόδου προωθεί την απομάκρυνση φωσφόρου χωρίς τη χρήση χημικών κροκιδωτικών, τα οποία έχουν υψηλό κόστος και αυξάνουν την ποσότητα της παραγόμενης περίσσειας ιλύος. Η EBPR πραγματοποιείται μέσω της ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων (Polyphosphate Accumulating Organisms-PAOs) σε συστήματα ενεργού ιλύος με την εναλλαγή αναερόβιων, αερόβιων/ανοξικών συνθηκών λειτουργίας. Ωστόσο, η παρουσία των GAOs (Glycogen Accumulating Organisms-GAOs) υποβαθμίζει τη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου σε ένα βιοαντιδραστήρα ή σε μία ΕΕΛ, καθώς τα βακτήρια αυτά καταναλώνουν την οργανική τροφή χωρίς να απομακρύνουν φώσφορο. Η EBPR πραγματοποιείται ταυτόχρονα με τη νιτροποίηση-απονιτροποίηση στα σύγχρονα μονοβάθμια συστήματα επεξεργασίας, μειώνοντας τόσο το λειτουργικό όσο και το ενεργειακό κόστος της εγκατάστασης επεξεργασίας. Ωστόσο, ο χαμηλός λόγος C/N των εισερχόμενων αποβλήτων (στραγγίδια αφυδάτωσης) αποτελεί την κύρια αιτία αστοχίας των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας, διότι η συγκέντρωση του

οργανικού άνθρακα δεν επαρκεί για την ανάπτυξη των απαραίτητων μικροβιακών πληθυσμών. Επομένως, η εφαρμογή της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης σε συνδυασμό με την αερόβια, ανοξική δέσμευση φωσφόρου μειώνουν την παραγόμενη ποσότητα της περίσσειας ιλύος, τη ζήτηση σε διαλυμένο οξυγόνο και πηγή άνθρακα. Η σταθερή απόδοση της EBPR εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως η παρουσία των NO<sub>x</sub>-N στο αναερόβιο τμήμα, ο ανταγωνισμός μεταξύ των PAOs και των GAOs, οι λειτουργικές, περιβαλλοντικές παράμετροι, η συγκέντρωση των θρεπτικών (N, P), του οργανικού άνθρακα, της FA και του FNA στο βιολογικό αντιδραστήρα (Zhao et al., 2019, Chen et al., 2013, Oehmen et al., 2007, Carvalho et al., 2007, Zheng et al., 2016).

# 2.4.2 Μηχανισμός της βιολογικής απομάκρυνσης του φωσφόρου

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου οφείλεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μικροοργανισμών να αφομοιώνουν παραπάνω ποσότητα φωσφόρου από αυτή που χρειάζονται για τις μεταβολικές τους ανάγκες και να την αποθηκεύουν ενδοκυτταρρικά με τη μορφή πολυφωσφορικών αλυσίδων (poly-P) (Chen et al., 2013). Η αρχή λειτουργίας της EBPR είναι η εναλλαγή αναερόβιων, αερόβιων/ανοξικών συνθηκών λειτουργίας με σκοπό την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων στη βιομάζα των συστημάτων ενεργού ιλύος. Οι κύριες διαφορές στις μεταβολικές διεργασίες των πολυφωσφορικών βακτηρίων σχετίζονται με τον τρόπο μεταφοράς των πτητικών λιπαρών οξέων (οξικό, προπιονικό οξύ) στο εσωτερικό του κυττάρου, την πηγή του δυναμικού αναγωγής για το σχηματισμό των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs και τη βιοχημική οδό της υδρόλυσης του γλυκογόνου.

Υπό αναερόβιες συνθήκες, τα PAOs προσλαμβάνουν τις ευκολοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις, πρωτίστως τα πτητικά λιπαρά οξέα (Volatile Fatty Acids-VFAs), όπως το οξικό, το προπιονικό οξύ και τα αποθηκεύουν ως οργανικά πολυμερή, όπως τα πολυυδροξυαλκανοϊκά οξέα (polyhydroxyalkanoates-PHAs) στο εσωτερικό του κυττάρου τους. Τα PAOs χρησιμοποιούν την ενέργεια υπό τη μορφή της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) που παράγεται από την υδρόλυση των

ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων με σκοπό τη μεταφορά και τη μετατροπή του οξικού, προπιονικού οξέος σε acetyl-CoA και propionyl-CoA, αντίστοιχα. Οι poly-P είναι ανόργανες ενώσεις υψηλού ενεργειακού περιεχομένου και η υδρόλυσή τους οδηγεί στην απελευθέρωση των ορθοφωσφορικών στην υγρή φάση. Επίσης, η παραγόμενη ΑΤΡ μετατρέπεται σε διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) κατά τη μετατροπή του οξικού οξέος σε acetyl-CoA και CO2. Ακόμη, ένα μέρος της παραγόμενης ενέργειας για τη μεταφορά και τη μετατροπή των VFAs προέρχεται από την υδρόλυση του αποθηκευμένου γλυκογόνου στο εσωτερικό του κυττάρου των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Το γλυκογόνο υδρολύεται σε πυροσταφυλικό μέσω της βιοχημικής οδού Embden–Meyerhoff–Parnas (EMP) ή της Entner– Doudoroff (ED). Η υδρόλυση του γλυκογόνου μέσω της μεθόδου ED παράγει μικρότερη ποσότητα ATP συγκριτικά με τη μέθοδο EMP. Σύμφωνα με διάφορες βιβλιογραφικές αναφορές, τα PAOs χρησιμοποιούν κυρίως τη βιοχημική οδό ED με αποτέλεσμα το μεγαλύτερο μέρος της απαιτούμενης ενέργειας να καλύπτεται από την υδρόλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων. Η παραπάνω διαδικασία περιγράφει την ενεργητική μεταφορά των οργανικών ενώσεων στο εσωτερικό του κυττάρου των PAOs, ενώ η μεταφορά αυτή μπορεί να γίνει μέσω της παθητικής διάχυσης. Ωστόσο, τα πολυφωσφορικά βακτήρια ακολουθούν την ενεργητική μεταφορά κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό τους. Η παραγωγή του δυναμικού αναγωγής είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των συνενζύμων acetyl-CoA και propionyl-CoA με σκοπό τη σύνθεση των PHAs στο εσωτερικό του κυττάρου των PAOs. Το δυναμικό αναγωγής (NADH<sub>2</sub>) παράγεται κατά τη μετατροπή του γλυκογόνου σε πυροσταφυλικό μέσω της βιοχημικής οδού της γλυκόλυσης υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Έπειτα, το πυροσταφυλικό μετατρέπεται σε acetyl-CoA και CO<sub>2</sub>, παράγοντας NADH<sub>2</sub> το οποίο χρησιμοποιείται για το σχηματισμό των PHAs μέσω της συμπύκνωσης του acetyl-CoA και του propionyl-CoA. Σύμφωνα με τον κύκλο του Krebs (TCA), ο σχηματισμός του propionyl-CoA είναι πιθανό να πραγματοποιηθεί μέσω της βιοχημικής οδού ηλεκτρικού-προπιονικού. Η μέθοδος αυτή καταναλώνει το δυναμικό αναγωγής το οποίο προέρχεται από τη γλυκόλυση, ακολουθώντας την αντίστροφη φορά του κύκλου του Krebs από οξαλοξικό σε succinyl-CoA και τελικά σε propionyl-CoA. Άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η εισαγωγή του acetyl-CoA στον κύκλο του Krebs (TCA) συμβάλλει στην παραγωγή του

δυναμικού αναγωγής σε ποσοστό 30%, με αποτέλεσμα τα PAOs να χρησιμοποιούν ταυτόχρονα τις δύο βιοχημικές οδούς (γλυκόλυση/TCA). Επίσης, η έκλυση του CO<sub>2</sub> φανερώνει την προσφορά του TCA στην παραγωγή του δυναμικού αναγωγής. Συνεπώς, το 70% του δυναμικού αναγωγής παράγεται από τη γλυκόλυση, καθώς το υπόλοιπο 30% παράγεται από τον TCA (Oehmen et al., 2007, Acevedo et al., 2012, Oehmen et al., 2005a, Hood et Randall, 2001, Comeau et al., 1985).



#### Εικόνα 2.1 Αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs

Υπό αερόβιες συνθήκες, τα PAOs χρησιμοποιούν τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs ως πηγή ενέργειας και άνθρακα με αποδέκτη ηλεκτρονίων το οξυγόνο με σκοπό την παραγωγή ATP για την ανάπτυξη της βιομάζας, την αναπλήρωση του γλυκογόνου και των ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων, τη συντήρηση του κυττάρου, την πρόσληψη των ορθοφωσφορικών της υγρής φάσης. Έτσι, η απομάκρυνση φωσφόρου πραγματοποιείται μέσω της απόρριψης της περίσσειας ιλύος η οποία διαθέτει υψηλό περιεχόμενο σε poly-P. Ο καταβολισμός των PAOs πραγματοποιείται μέσω του TCA παρουσία δέκτη ηλεκτρονίων, καθώς τα PHAs διασπώνται σε acetyl-CoA και propionyl-CoA. Το acetyl-CoA και το propionyl-CoA εισέρχονται στον TCA σε επίπεδο οξαλοξικού και succinyl-CoA, αντίστοιχα (Oehmen et al., 2007, Acevedo et al., 2012, Oehmen et al., 2005a).

Н ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου πραγματοποιείται από τα πολυφωσφορικά βακτήρια (Denitrifying απονιτροποιητικά Polyphosphate Accumulating Organisms-DPAOs) τα οποία έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs ως πηγή άνθρακα και ενέργειας με αποδέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρικά ή τα νιτρώδη. Η ενέργεια που παράγεται από τον ανοξικό καταβολισμό των DPAOs με αποδέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρικά είναι 40% λιγότερη σε σχέση με την παραγόμενη ενέργεια από τον αερόβιο καταβολισμό των PAOs. Συνεπώς, ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου είναι μικρότερος από τον αερόβιο. Ο ανοξικός μεταβολισμός των PAOs μειώνει την παραγόμενη περίσσεια ιλύ, καθώς η ποσότητα του νέου κυτταρικού υλικού μειώνεται κατά 20-30%. Η ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου από τα DPAOs υπό ανοξικές συνθήκες επιφέρει μείωση στην κατανάλωση εξωτερικής πηγής άνθρακα και ενέργειας για αερισμό (Oehmen et al., 2007, Acevedo et al., 2012, Oehmen et al., 2005a).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα PAOs είναι ετεροτροφικοί χημικοοργανοτροφικοί μικροοργανισμοί αναερόβιοι ή μη οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να καταναλώνουν το ευκολοδιασπάσιμο οργανικό υλικό χωρίς την παρουσία δέκτη ηλεκτρονίων. Η εναλλαγή αναερόβιων, αερόβιων/ανοξικών συνθηκών λειτουργίας δίνει προτεραιότητα στα PAOs έναντι των τυπικών ετεροτροφικών απονιτροποιητικών βακτηρίων να προσλάβουν την απαραίτητη ποσότητα του διαλυτού οργανικού άνθρακα και φωσφόρου που περιέχεται στα εισερχόμενα λύματα με σκοπό τη μέγιστη έκλυση και απομάκρυνση φωσφόρου υπό αναερόβιες, αερόβιες/ανοξικές συνθήκες, αντίστοιχα. Η απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του οργανικού υλικού πραγματοποιείται υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας στα συστήματα επεξεργασίας με ταυτόχρονη απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου με αποτέλεσμα οι ενεργειακές απαιτήσεις σε αερισμό να μειώνονται.

Τα GAOs (Glycogen Accumulating Organisms-GAOs) είναι μία ομάδα βακτηρίων τα οποία ανταγωνίζονται τα PAOs για την πρόσληψη των VFAs υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Τα GAOs έχουν παρόμοιο μεταβολισμό με τα PAOs, αλλά δεν διαθέτουν τις ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες. Έτσι, τα GAOs δεν έχουν την ικανότητα να εκλύουν και να απομακρύνουν φώσφορο υπό αναερόβιες,

αερόβιες/ανοξικές συνθήκες, αντίστοιχα. Η απαιτούμενη ενέργεια για την κατανάλωση του οργανικού υλικού και τη σύνθεση των PHAs προέρχεται αποκλειστικά από την υδρόλυση του γλυκογόνου, καθώς τα GAOs δεν διαθέτουν τις εσωτερικά αποθηκευμένες poly-P. Η γλυκόλυση, όπως και στον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs, πραγματοποιείται μέσω είτε της βιοχημικής οδού Embden– Meyerhoff–Parnas (EMP) είτε της Entner–Doudoroff (ED). Κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό, τα GAOs καταναλώνουν μεγάλη ποσότητα του εσωτερικά αποθηκευμένου γλυκογόνου για την παραγωγή ATP και την κάλυψη των μεταβολικών τους αναγκών. Το δυναμικό αναγωγής που παράγεται κατά τη γλυκόλυση βρίσκεται σε περίσσεια σε σχέση με αυτο που καταναλώνεται για την ενεργοποίηση του acetyl-CoA και τη σύνθεση των PHAs. Συνεπώς, ένα μέρος του δυναμικού αναγωγής (NADH) καταναλώνεται για την ενεργοποίηση του ρογοιης (NADH) καταναλώνεται για την ευεργοποίηση του ρογοιος.

Υπό αερόβιες/ανοξικές συνθήκες, τα GAOs οξειδώνουν τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs με αποδέκτη ηλεκτρονίων το οξυγόνο/νιτρικά ή νιτρώδη για την ανάπτυξη της βιομάζας, τη συντήρηση του κυττάρου και την αναπλήρωση του γλυκογόνου. Τα GAOs καταναλώνουν τα VFAs χωρίς να συνεισφέρουν στην απομάκρυνση του φωσφόρου με αποτέλεσμα να αποτελούν την κύρια αιτία αστοχίας της EBPR. Τα GAOs εντοπίζονται τόσο σε ΕΕΛ πλήρους κλίμακας όσο και σε εργαστηριακούς βιοαντιδραστήρες. Αρκετές μελέτες αναφέρουν ότι τα GAOs αυξάνουν τη ζήτηση του ευκολοδιασπάσιμου οργανικού υλικού σε ένα σύστημα επεξεργασίας κατά την αναερόβια φάση λειτουργίας (Oehmen et al 2007, Acevedo et al., 2012). Η επιλογή της κατάλληλης πηγής άνθρακα (οξικό, προπιονικό οξύ) σε συνδυασμό με τη ρύθμιση των λειτουργικών, περιβαλλοντικών παραμέτρων μπορούν να βελτιώσουν την απόδοση της EBPR, μειώνοντας το ενεργειακό, λειτουργικό κόστος μιας ΕΕΛ (Hood et Randall, 2001, Oehmen et al., 2005b, Oehmen et al., 2007).

# 2.4.3 Μικροβιακή κοινότητα στη βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου

Τα τελευταία χρόνια, η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση των διαφόρων ομάδων και υποομάδων των PAOs και GAOs πραγματοποιείται μέσω των μη καλλιεργητικών μοριακών τεχνικών. Οι τεχνικές αυτές, όπως η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (qPCR), η ηλεκτροφόρηση γέλης βαθμιδωτής μετουσίωσης (DGGE), ο in-situ υδριβισμός με φθορισμό (FISH), η ενίσχυση του γονιδίου 16S rRNA και της πολυφωσφορικής κινάσης ppk προσφέρουν μεγάλη ακρίβεια στην ταυτοποίηση των φυλογενετικών ομάδων των PAOs και GAOs στη βιομάζα τόσο των εργαστηριακών όσο και των βιοαντιδραστήρων πλήρους κλίμακας (Oehmen et al., 2010, Oehmen et al., 2007, Welles et al., 2015).

Το γένος Candidatus Accumulibacter Phosphatis ανήκει στην ομάδα των PAOs και σχετίζεται με τη β-τάξη του φύλου Proteobacteria. Το γένος αυτό αποτελεί μεγάλο μέρος του μικροβιακού πληθυσμού των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας με ταυτόχρονη απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου σε επίπεδο εργαστηριακής και πραγματικής κλίμακας. Επίσης, το γένος Candidatus Accumulibacter Phosphatis συνάδει με το χαρακτηριστικό φαινότυπο των PAOs τα οποία εκλύουν φώσφορο μέσω της υδρόλυσης των ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας και έπειτα προσλαμβάνουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης υπό αερόβιες/ανοξικές συνθήκες. Το γένος Candidatus Accumulibacter Phosphatis αποτελείται από δύο διακριτούς τύπους βακτηρίων (Type I και Type II) οι οποίοι περιλαμβάνουν διάφορες υποομάδες (IA, IB, IC, ID, IE, IIA, IIB, IIC, IID, IIE, IIF, IIG). Σύμφωνα με τα πρόσφατα βιβλιογραφικά ευρήματα, ο διαχωρισμός αυτός προκύπτει με βάση τον αποδέκτη ηλεκτρονίων και τη βιοχημική οδό (υδρόλυση πολυφωσφορικών αλυσίδων, γλυκόλυση, κύκλος του Krebs) που ακολουθούν τα πολυφωσφορικά βακτήρια για την παραγωγή της απαραίτητης ενέργειας και του δυναμικού αναγωγής υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Το Accumulibacter Type I (PAO I) έχει την ικανότητα να χρησιμοποιεί το οξυγόνο, τα νιτρώδη και τα νιτρικά ως αποδέκτες ηλεκτρονίων, ενώ το Accumulibacter Type II (PAO II) χρησιμοποιεί μόνο το οξυγόνο και τα νιτρώδη, καθώς δε διαθέτει το ένζυμο

της αναγωγάσης του νιτρικού (Acevedo et al., 2012, Welles et al., 2015, Oehmen et al., 2007, Oehmen et al., 2010, Zeng et al., 2016).

Οι Zeng et al., 2016 μελέτησαν τη μικροβιακή κοινότητα στη βιομάζα ενός βιοαντιδραστήρα νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης με ταυτόχρονη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, ενισχύοντας το γονίδιο ppk1. Το γένος *Accumulibacter Type I* (PAO I) εντοπίστηκε σε πολύ μικρό ποσοστό (5%) στη βιομάζα του βιοαντιδραστήρα, λόγω της επίτευξης της διαδικασίας της νιτρωδοποίησης η οποία έλαβε χώρα έπειτα από μία περίοδο προσαρμογής του συστήματος επεξεργασίας στη μεταβολή των περιβαλλοντικών και λειτουργικών παραμέτρων. Η παρουσία του γένους *Accumulibacter Type II* (PAO II) σε ποσοστό 90-100% εξασφάλισε τη σταθερή απόδοση της ανοξικής απομάκρυνσης φωσφόρου καθ΄όλη τη διάρκεια λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα. Η ικανότητα των PAO II να χρησιμοποιούν τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, οξειδώνοντας τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs οδήγησε στην ταυτόχρονη ανοξική απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης οργανικού υποστρώματος.

Οι Carvalho et al., 2007 μελέτησαν την ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου σε δύο βιοαντιδραστήρες τύπου SBR, χρησιμοποιώντας διαφορετική πηγή άνθρακα (οξικό, μεταβάλλοντας τις συνθήκες προπιονικό οξύ) και λειτουργίας από αναερόβιες/αερόβιες σε αναερόβιες/ανοξικές με σκοπό τον εγκλιματισμό της βιομάζας. Ο βιοαντιδραστήρας ο οποίος τροφοδοτήθηκε με οξικό οξύ παρουσίασε χαμηλή απομάκρυνση φωσφόρου κατά το αρχικό στάδιο εγκλιματισμού της βιομάζας στις ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Το γεγονός αυτό συνδέθηκε με την παρουσία των PAO II και την ανεπαρκή συγκέντρωση δέκτη ηλεκτρονίων (νιτρώδη) στο στάδιο αυτό εγκλιματισμού της βιομάζας. Επίσης, η απομάκρυνση φωσφόρου αναχαιτίστηκε πλήρως με τη μείωση της διάρκειας της αερόβιας φάσης λειτουργίας, καθώς ο αναερόβιος μεταβολισμός του οξικού οξέος απαιτεί παραπάνω ποσότητα γλυκογόνου από τον αναερόβιο μεταβολισμό του προπιονικού οξέος. Υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας, η παραγόμενη ποσότητα του γλυκογόνου δεν επαρκούσε για τον αναερόβιο μεταβολισμό του οξικού οξέος στον επόμενο κύκλο λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Επομένως, η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου απέτυχε. Ακόμη, η αναγωγή των νιτρικών

πραγματοποιείται με πιο γρήγορο ρυθμό από τους τυπικούς ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς σε σχέση με την αναγωγή των νιτρωδών από τα PAO II με αποτέλεσμα τη συσσώρευση των NO<sub>2</sub> στο βιοαντιδραστήρα. Η υψηλή συγκέντρωση των νιτρωδών αναχαίτισε τον αναβολισμό των DPAOs κατά την ανοξική φάση λειτουργίας. Ωστόσο, ο βιοαντιδραστήρας τύπου SBR ο οποίος τροφοδοτήθηκε με προπιονικό οξύ πέτυχε υψηλή και σταθερή απομάκρυνση φωσφόρου καθ'όλη τη διάρκεια λειτουργίας του. Τα PAO I ήταν υπεύθυνα για την ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου, χρησιμοποιώντας τα νιτρικά και τα νιτρώδη ως αποδέκτες ηλεκτρονίων. Τέλος, η χρήση του προπιονικού οξέος ως πηγή άνθρακα ευνόησε το μεταβολισμό των απονιτροποιητικών πολυφωσφορικών βακτηρίων και οδήγησε στην παραγωγή επαρκούς ποσότητας γλυκογόνου κατά την ανοξική φάση λειτουργίας. Επομένως, τα πολυφωσφορικά βακτήρια διέθεταν την απαραίτητη ποσότητα γλυκογόνου για τον αναερόβιο μεταβολισμό του προπιονικού οξέος στον επόμενο κύκλο λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα.

Ο λόγος P/C (Phosphorus/Chemical Oxygen Demand) των εισερχόμενων λυμάτων επηρεάζει άμεσα την ποσότητα των πολυφωσφορικών αλυσίδων στο εσωτερικό του κυττάρου των PAOs. Οι δύο τύποι των PAOs ακολουθούν διαφορετικές μεταβολικές οδούς ανάλογα με τη συγκέντρωση των πολυφωσφορικών αλυσίδων. Τα ΡΑΟ Ι αναχαιτίζονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις πολυφωσφορικών αλυσίδων, καθώς χρησιμοποιούν την παραγόμενη ενέργεια κυρίως από την υδρόλυση των poly-P για την πρόσληψη της οργανικής τροφής και τη σύνθεση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs. Επίσης, το δυναμικό αναγωγής (NADH) προέρχεται κυρίως από τη διαδικασία της γλυκόλυσης για την ενεργοποίηση του acetyl-CoA και το σχηματισμό των PHAs κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAO I. Ωστόσο, τα PAO II έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν διαφορετικές μεταβολικές οδούς ανάλογα με τη διαθέσιμη ποσότητα των πολυφωσφορικών αλυσίδων υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Έτσι, τα ΡΑΟ ΙΙ χρησιμοποιούν τη βιοχημική οδό της γλυκόλυσης με σκοπό την παραγωγή της απαραίτητης ενέργειας και του δυναμικού αναγωγής σε συνθήκες ανεπαρκούς ποσότητας πολυφωσφορικών αλυσίδων. Το παραγόμενο NADH βρίσκεται σε περίσσεια με αποτέλεσμα η συγκέντρωση των PHAs να αυξάνεται κατά την υδρόλυση του γλυκογόνου μέσω της γλυκολυτικής

οδού. Επίσης, τα PAO II καταναλώνουν το NADH για την ενεργοποίηση του propionyl-CoA και τη σύνθεση των PHAs μέσω της βιοχημικής οδού του ηλεκτρικούπροπιονικού. Επομένως, τα PAO II επικρατούν έναντι των PAO I και μπορούν να συμπεριφερθούν ως GAOs σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης πολυφωσφορικών αλυσίδων (Acevedo et al., 2012, Welles et al., 2015, Oehmen et al., 2007, Oehmen et al., 2010).

Οι Welles et al., 2015 μελέτησαν τις μακροχρόνιες και βραχυχρόνιες αλλαγές στο μεταβολισμό των PAO I και PAO II, χρησιμοποιώντας τρεις βιοαντιδραστήρες τύπου SBR με διαφορετικές λειτουργικές, φυσικοχημικές παραμέτρους. Τα ΡΑΟ Ι και ΡΑΟ ΙΙ υιοθέτησαν το μεταβολισμό των GAOs, ακολουθώντας αποκλειστικά τη βιοχημική οδό της γλυκόλυσης για την πρόσληψη των πτητικών λιπαρών οξέων και τη παραγωγή του δυναμικού αναγωγής σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης πολυφωσφορικών αλυσίδων για μικρό χρονικό διάστημα λειτουργίας. Ωστόσο, τα PAO ΙΙ προσέλαβαν το οξικό οξύ με ρυθμό τέσσερις φορές μεγαλύτερο από αυτόν των PAO I σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης φωσφόρου και μη επαρκούς ποσότητας poly-P. Επομένως, τα PAO ΙΙ αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των PAO I τα οποία αδυνατούν να προσλάβουν τα απαραίτητα πτητικά λιπαρά οξέα σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης πολυφωσφορικών αλυσίδων. Επίσης, τα PAO Ι ακολούθησαν τον τυπικό μεταβολισμό των PAOs, ενώ τα PAO ΙΙ υιοθέτησαν τον αναερόβιο μεταβολισμό των GAOs σε συνθήκες επαρκούς ποσότητας poly-P, αλλά χαμηλής συγκέντρωσης φωσφόρου κατά τη μακροχρόνια λειτουργία των βιοαντιδραστήρων.

Σύμφωνα με τη φυλογενετική διάκριση των GAOs, τα γένη Candidatus Competibacter Phosphatis (Competibacter) και Defluviicoccus vanus συναντώνται συχνά στη βιομάζα των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας τόσο σε εργαστηριακή όσο και σε πραγματική κλίμακα. Γενικότερα, τα GAOs υπερισχύουν έναντι των PAOs σε βιοαντιδραστήρες όπου το οξικό οξύ αποτελεί τη μοναδική πηγή άνθρακα. Το γένος Sphingomonas ανήκει στην ομάδα των GAOs, αλλά εντοπίζεται πιο σπάνια στη βιομάζα των βιοαντιδραστήρων EBPR. Το γένος Competibacter ανήκει στην γ-τάξη των Proteobacteria, ενώ το γένος Defluviicoccus vanus ανήκει στην α-τάξη των Proteobacteria. Τα γένη αυτά διαφοροποιούνται με

ρυθμό πρόσληψης του οξικού, προπιονικού οξέος και την βάση το απονιτροποιητική τους ικανότητα (Oehmen et al., 2010). Το γένος Competibacter αποτελείται από επτά διαφορετικές υποομάδες οι οποίες διαφέρουν ως προς τη δυνατότητα απονιτροποίησης. Οι υποομάδες 1, 4, 5 χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα και ενέργειας τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs με αποδέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρικά υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Αντιθέτως, η υποομάδα 6 χρησιμοποιεί είτε τα νιτρικά είτε τα νιτρώδη ως αποδέκτες ηλεκτρονίων. Η υποομάδες 3 και 7 είναι ικανές να οξειδώνουν τα PHAs μόνο υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας, καθώς δε διαθέτουν κανένα από τα ένζυμα αναγωγής τα οποία συμμετέχουν στη διαδικασία της απονιτροποίησης. Το γένος Defluviicoccus vanus διακρίνεται σε δύο υπόομάδες με βάση το δέκτη ηλεκτρονίων υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Τα Defluviicoccus vanus Ι δεν διαθέτουν το κατάλληλο ένζυμο αναγωγής των νιτρωδών και έτσι είναι ικανά να οξειδώνουν τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs, χρησιμοποιώντας μόνο τα νιτρικά ως δέκτη ηλεκτρονίων κατά την ανοξική φάση λειτουργίας. Η ομάδα ΙΙ του γένους Defluviicoccus vanus δε συμμετέχει καθόλου στη διαδικασία της απονιτροποίησης, καθώς δεν μπορεί να ανάγει ούτε τα νιτρικά ούτε τα νιτρώδη σε αέριο άζωτο (Oehmen et al., 2010, Wang et al., 2008).

Οι Wang et al., 2008 μελέτησαν τη δυνατότητα απονιτροποίησης της ομάδας Ι του γένους *Defluviicoccus vanus,* χρησιμοποιώντας ένα βιοαντιδραστήρα τύπου SBR ο οποίος τροφοδοτήθηκε με οξικό οξύ. Η βιομάζα του βιοαντιδραστήρα αποτελούταν κυρίως από το γένος *Defluviicoccus vanus I* (85–95% *Defluviicoccus vanus I,* 5% Competibacter). Ωστόσο, το γένος *Competibacter* ήταν υπεύθυνο για την αναγωγή των νιτρωδών, καθώς το γένος *Defluviicoccus vanus I* δεν ήταν ικανό να χρησιμοποιήσει τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων ακόμα και σε συνθήκες εγκλιματισμού της βιομάζας.

Όσον αφορά το ρυθμό πρόσληψης των πτητικών λιπαρών οξέων, το γένος *Defluviicoccus vanus* προσλαμβάνει με μεγαλύτερο ρυθμό το προπιονικό από το οξικό οξύ. Έτσι το γένος *Defluviicoccus vanus* αποκτά ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι του γένους *Competibacter* υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας σε βιοαντιδραστήρες με μοναδική πηγή άνθρακα το προπιονικό οξύ (Oehmen et al.,

2005b, Oehmen et al., 2006). Ωστόσο, το γένος *Defluviicoccus Vanus* είναι δυνατό να αναπτυχθεί στη βιομάζα των συστημάτων επεξεργασίας τα οποία τροφοδοτούνται με οξικό οξύ. Η παρουσία του οξικού οξέος επιταχύνει το ρυθμό πρόσληψης του προπιονικού οξέος από τα *Defluviicoccus vanus*. Το γεγονός αυτό συνδέεται με τη βιοχημική οδό της γλυκόλυσης η οποία είναι υπεύθυνη για την πρόσληψη και τη μεταφορά των πτητικών λιπαρών οξέων στο εσωτερικό του κυττάρου. Η γλυκόλυση αναχαιτίζεται με την παραγωγή περίσσειας ποσότητας ATP. Έτσι, τα *Defluviicoccus vanus* καταναλώνουν περισσότερη ATP για την ταυτόχρονη πρόσληψη του οξικού και προπιονικού οξέος με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της ενέργειας υπό τη μορφή της τριφωσφορικής αδενοσίνης να μειώνεται και η βιοχημική οδός της γλυκόλυσης να επιταχύνεται (Dai et al., 2007). Το γένος *Competibacter* αναχαιτίζεται με την αλλαγή της πηγής άνθρακα από οξικό σε προπιονικό οξύ υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Τα PAOs είναι πιο ανθεκτικά στην αλλαγή της οργανικής τροφής, καθώς προσλαμβάνουν το οξικό και το προπιονικό οξύ με παρόμοιο ρυθμό (Oehmen et al., 2005b).

## 2.4.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου

Τα σύγχρονα συστήματα βιολογικής επεξεργασίας τείνουν να επιτελούν ταυτόχρονα τη διαδικασία της νιτροποίησης-απονιτροποίησης και της EBPR, με σκοπό τη βέλτιστη απομάκρυνση των θρεπτικών με το χαμηλότερο λειτουργικό, ενεργειακό κόστος. Η συνύπαρξη των διαφόρων μικροοργανισμών καθιστά αρκετά πολύπλοκη τη λειτουργία των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας, καθώς τα διάφορα βακτήρια αλληλεπιδρούν με διαφορετικό τρόπο στην ταυτόχρονη μεταβολή των λειτουργικών και περιβαλλοντικών παραμέτρων. Όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω (ενότητα 2.3), η δημιουργία των απαραίτητων συνθηκών λειτουργίας για την επίτευξη της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης επηρεάζει το μεταβολισμό των νιτροποιητικών, απονιτροποιητικών και πολυφωσφορικών βακτηρίων. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των PAOs και GAOs αποτελεί την κύρια αιτία αστοχίας των συστημάτων βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Επίσης, η παρουσία αποδέκτη ηλεκτρονίων υποβαθμίζει τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs, καθώς οι τυπικοί ετεροτροφικοί μικροοργανισμοί ανταγωνίζονται τα

πολυφωσφορικά βακτήρια στην κατανάλωση του ευκολοδιασπάσιμου οργανικού υλικού. Έτσι, οι λειτουργικές, φυσικοχημικές, περιβαλλοντικές παράμετροι όπως, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής, ο χρόνος παραμονής των στερεών, το είδος της οργανικής τροφής (οξικό, προπιονικό οξύ), ο λόγος P/C, το pH, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου, των θρεπτικών παίζουν καθοριστικό ρόλο στον ανταγωνισμό των PAOs-GAOs και στην πιθανή παρουσία των NO<sub>x</sub>-N στην αναερόβια φάση λειτουργίας. Οι πιο πρόσφατες έρευνες στοχεύουν στον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων του FNA και της FA οι οποίες αποτελούν αναχαιτιστικό ή ακόμα και τοξικό παράγοντα στο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά την επεξεργασία αποβλήτων μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και ταυτόχρονης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Η ταυτόχρονη παρουσία του FNA και της FA συναντάται συχνά στα μονοβάθμια συστήματα απομάκρυνσης θρεπτικών (N, Ρ), όπως οι βιοαντιδραστήρες τύπου SBR (Zheng et al., 2014, Lopez-Vazquez et al., 2009a, Oehmen et al., 2007). Συνεπώς, η πλήρη κατανόηση των διαφόρων παραγόντων οι οποίοι επηρεάζουν τις μεταβολικές διεργασίες των ποικίλων μικροβιακών πληθυσμών αποτελεί βασική προϋπόθεση για το σωστό σχεδιασμό των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας με ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου.

#### 2.4.4.1 Οργανική τροφή

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου εξαρτάται κυρίως από το είδος της οργανικής τροφής στην είσοδο μιας ΕΕΛ ή ενός εργαστηριακού βιοαντιδραστήρα (Oehmen et al., 2005b, 2004). Τα PAOs μπορούν να αποκτήσουν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των GAOs σε βιοαντιδραστήρες οι οποίοι τροφοδοτούνται είτε με οξικό είτε με προπιονικό οξύ. Αντιθέτως, η ανάπτυξη των GAOs ευνοείται με τη χρήση του οξικού οξέος ως μοναδική πηγή άνθρακα (Oehmen et al., 2006). Οι Oehmen et al., 2004, 2005b παρατήρησαν ότι ο αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs δεν αναχαιτίστηκε με την αλλαγή της οργανικής τροφής από οξικό σε προπιονικό οξύ, καθώς τα PAOs προσλαμβάνουν τα δύο αυτά πτητικά λιπαρά οξέα με παρόμοιο ρυθμό. Τα GAOs προσλαμβάνουν το προπιονικό οξύ με πολύ μικρό ρυθμό με αποτέλεσμα να αναχαιτίζονται με την αλλαγή της οργανικής τροφής από οξικό σε προπιονικό οξύ υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας (Oehmen et al., 2004, Oehmen et al., 2005b). Σύμφωνα με τους Oehmen et al., 2004, ο ρυθμός της αερόβιας δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs μειώθηκε με την αλλαγή της οργανικής τροφής από οξικό σε προπιονικό οξύ, λόγω του τύπου των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs που σχηματίστηκαν κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Η σύσταση των PHAs υποδεικνύει το είδος της μικροβιακής ομάδας η οποία επικρατεί στη βιομάζα ενός βιολογικού συστήματος επεξεργασίας. Τα PAOs σχηματίζουν κυρίως PHB όταν τροφοδοτούνται με οξικό οξύ, ενώ τα GAOs παράγουν περίπου 73% PHB και 25% PHV. Ο αναερόβιος μεταβολισμός του προπιονικού οξέος οδηγεί στη σύνθεση των PHV και PHMV (Carvalho et al., 2007). Τα PAOs μεταβολίζουν τα PHV με πιο αργό ρυθμό από τα PHB σε ένα μόνο κύκλο λειτουργίας ενός βιοαντιδραστήρα τύπου SBR (Oehmen et al., 2004). Η Θέμελη Ε., 2019 εξέτασε την επίδραση της οργανικής τροφής στον αναερόβιο και αερόβιο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων, καταλήγοντας σε παρόμοια συμπεράσματα με τους Oehmen et al., 2004. Συγκεκριμένα, τα PAOs δεν μπόρεσαν να ανταποκριθούν άμεσα στην αλλαγή της οργανικής τροφής από οξικό σε προπιονικό οξύ, χωρίς να έχει προηγηθεί μία περίοδος εγκλιματισμού της βιομάζας. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώθηκε με την αναχαίτιση της αναερόβιας έκλυσης φωσφόρου και της αερόβιας δέσμευσης αυτού από τα πολυφωσφορικά βακτήρια. Ωστόσο, τα PAOs δεν αναχαιτίστηκαν όταν η πηγή άνθρακα άλλαξε από προπιονικό σε οξικό οξύ. Οι Oehmen et al., 2006 μελέτησαν τον ανταγωνισμό των PAOs-GAOs σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με πηγή άνθρακα το οξικό οξύ. Τα GAOs αφομοίωσαν πιο γρήγορα το οξικό οξύ από τα PAOs με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της EBPR και τη συσσώρευση του φωσφόρου στην εκροή του βιοαντιδραστήρα. Οι Lu et al., 2006 υποστήριξαν ότι τα PAOs αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των GAOs, εναλλάσσοντας την οργανική τροφή από οξικό σε προπιονικό οξύ κάθε ένα ή δύο SRT (κάθε 8 ή 16 ημέρες) σε σχετικά υψηλό pH μεταξύ 7 και 8. Οι Carvaleirha et al., 2014a παρατήρησαν ότι η συνύπαρξη του οξικού και προπιονικού οξέος σε ποσοστό 75% και 25%, αντίστοιχα, ευνόησε την ανάπτυξη των PAOs. Τα PAOs αφομοιώνουν πιο γρήγορα το προπιονικό οξύ σε σχέση με το οξικό όταν τα δύο αυτά πτητικά λιπαρά οξέα βρίσκονται στην παραπάνω αναλογία. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι ο αναερόβιος μεταβολισμός του προπιονικού οξέος απαιτεί λιγότερη ενέργεια κατά την υδρόλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων και ποσότητα γλυκογόνου ανά mol HPr κατά τη διαδικασία της γλυκόλυσης.

νένος Defluviicoccus (DVGAOs) То vanus ανήκει στο φύλο των Alphaproteobacteria και ανταγωνίζεται τα PAOs στην πρόσληψη του προπιονικού οξέος. Τα DVGAOs εντοπίζονται σε βιοαντιδραστήρες με πηγή άνθρακα το προπιονικό οξύ και χαμηλή συγκέντρωση φωσφόρου. Οι Oehmen et al., 2005b καλλιέργησαν τα Alphaproteobacteria GAOs, χρησιμοποιώντας το προπιονικό οξύ ως πηγή άνθρακα σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Τα Alphaproteobacteria GAOs αναχαιτίστηκαν με την αλλαγή της οργανικής τροφής από προπιονικό σε οξικό οξύ. Οι Oehmen et al., 2006 πέτυχαν υψηλή απομάκρυνση φωσφόρου σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με πηγή άνθρακα το προπιονικό, αποδεικνύοντας ότι τα PAOs προσλαμβάνουν με μεγαλύτερο ρυθμό το προπιονικό οξύ από τα Alphaproteobacteria GAOs. Σύμφωνα με τους Oehmen et al., 2005c, το γένος Accumulibacter ανταγωνίζεται αποτελεσματικότερα το γένος Defluviicoccus vanus στην πρόσληψη του προπιονικού οξέος παρά το γένος Competibacter στην πρόσληψη του οξικού οξέος σε pH ίσο με 8. Επίσης, το γένος Defluviicoccus vanus δεν έχει την ικανότητα να οξειδώσει τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs με δέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρώδη. Έτσι, τα PAOs επικρατούν έναντι των Defluviicoccus vanus κατά την ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου σε βιοαντιδραστήρες νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης και ταυτόχρονης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Η Θέμελη Ε., 2019 μελέτησε το μεταβολισμό των PAOs σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με ταυτόχρονη απομάκρυνση Ν, Ρ μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και EBPR. Η επιλογή του προπιονικού οξέος ως μοναδική πηγή άνθρακα και η επίτευξη της νιτρωδοποίησης οδήγησαν στη σταθερή απόδοση της EBPR και στην επικράτηση του γένους Accumulibacter έναντι των γενών Competibacter και Defluviicoccus vanus. Σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες, τα Alphaproteobacteria GAOs προτιμούν το προπιονικό παρά το οξικό οξύ. Ωστόσο, οι Dai et al., 2007 ανέπτυξαν το γένος Defluviicoccus vanus σε βιομάζα τροφοδοτούμενη με οξικό οξύ και χαμηλή συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου (1mg/l). Τα DVGAOs σε αντίθεση με το γένος Competibacter προσαρμόζονται γρήγορα στην αλλαγή της οργανικής τροφής από οξικό σε προπιονικό οξύ, χωρίς να είναι απαραίτητος ο εγκλιματισμός

της βιομάζας. Σύμφωνα με τους Carvaleirha et al., 2014a, η χρήση της μικτής οργανικής τροφής (75% οξικό οξύ και 25% προπιονικό οξύ) δίνει προτεραιότητα στα PAOs έναντι των γενών DVGAOs και Competibacter να καταναλώσουν το οργανικό υπόστρωμα. Ακόμη, τόσο τα PAOs όσο και τα DVGAOs προτιμούν το προπιονικό παρά το οξικό οξύ ως πηγή άνθρακα όταν τα δύο αυτά πτητικά λιπαρά οξέα συνυπάρχουν υπό αναερόβιες συνθήκες. Τα PHV και PHMV τα οποία παράγονται κατά την αναερόβια πρόσληψη του προπιονικού οξέος οξειδώνονται πιο γρήγορα από τα PHB και PHV τα οποία είναι τα κύρια συστατικά των PHAs κατά την αναερόβια πρόσληψη του οξικού οξέος. Επομένως, τόσο ο αναερόβιος όσο και ο αερόβιος μεταβολισμός των PAOs και των DVGAOs ευνοείται με την πρόσληψη του προπιονικού οξέος, καθώς οι δύο αυτές μικροβιακές ομάδες μεγιστοποιούν τα αποθέματα σε οργανικό υλικό και ενέργεια εσωτερικά του κυττάρου τους υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας (Dai et al., 2007). Επίσης, οι Carvaleirha et al., 2014a και οι Dai et al., 2007 παρατήρησαν ότι ο ρυθμός πρόσληψης του προπιονικού οξέος αυξάνεται με την παρουσία του οξικού οξέος. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην επιτάχυνση του ενζύμου της φωσφοφρουκτοκινάσης, το οποίο είναι υπεύθυνο για την κατάλυση της 6-φωσφορικής φρουκτόζης σε 1,6-φωσφορική φρουκτόζη, καθώς η συγκέντρωση της ΑΤΡ μειώνεται με την ταυτόχρονη πρόσληψη του οξικού και προπιονικού οξέος.



Εικόνα 2.2 Μερική απεικόνιση της διαδικασίας της γλυκόλυσης συμπεριλαμβανομένου του σταδίου της κατάλυσης της 6-φωσφορικής φρουκτόζης από το ένζυμο της φωσφοφρουκτοκινάσης.

Οι Hood et Randall 2001, παρατήρησαν ότι ο ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου μειώθηκε με τη χρήση του προπιονικού οξέος ως πηγή άνθρακα κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων τύπου batch. Αντιθέτως, η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου ευνοήθηκε με τη χρήση του προπιονικού οξέος ως οργανικό υπόστρωμα σε βιοαντιδραστήρες με μεγάλη διάρκεια λειτουργίας. Σύμφωνα με τους Oehmen et al., 2004, τα PAOs προσλαμβάνουν με πολύ μικρότερο ρυθμό το βουτυρικό, ισοβαλερικό, βαλερικό οξύ υπό αναερόβιες συνθήκες, καθώς απαιτούν μεγαλύτερη περίοδο εγκλιματισμού της βιομάζας σε αυτα.

Η υψηλή οργανική φόρτιση στην είσοδο των βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας μπορεί να οδηγήσει στην αναχαίτιση της EBPR. Ο χαμηλός λόγος P/C και κατ επέκταση η μείωση της συγκέντρωσης των πολυφωσφορικών αλυσίδων εσωτερικά του κυττάρου των PAOs ευνοεί την ανάπτυξη των GAOs, καθώς διαθέτουν παραπάνω ενέργεια από την γλυκόλυση για την πρόσληψη των VFAs υπό αναερόβιες συνθήκες. Τα PAOs αποκτούν πλεονέκτημα έναντι των GAOs σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην ικανότητα των PAOs να καταναλώνουν σταδιακά τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs για την κάλυψη των αναγκών τους σε

πηγή άνθρακα και ενέργεια κατά την αερόβια φάση λειτουργίας. Τα GAOs καταναλώνουν εξαρχής ολόκληρη την ποσότητα των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs με αποτέλεσμα να μην μπορούν να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες για τη συντήρηση του κυττάρου υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας (Carvaleirha et al., 2014b). Έτσι, οι Carvaleirha et al., 2014b απέδειξαν ότι ο ρυθμός φθοράς των GAOs είναι τέσσερις φορές μεγαλύτερος από αυτόν των PAOs σε συνθήκες χαμηλής οργανικής φόρτισης. Τέλος, η συσσώρευση του οργανικού υλικού οδηγεί στο ξέπλυμα της βιομάζας των PAOs και στην επικράτηση των τυπικών ετεροτροφικών βακτηρίων κατά την αερόβια φάση λειτουργίας. Η αναχαίτιση του αναερόβιου μεταβολισμού των PAOs οδηγεί στη συσσώρευση φωσφόρου στην εκροή του συστήματος (<1mg total P/L), καθώς τα πολυφωσφορικά βακτήρια δε διαθέτουν την απαραίτητη ποσότητα PHAs για την πρόσληψη των ορθοφωσφορικών της υγρής φάσης (Lopez-Vazquez et al., 2009a, Zheng et al., 2014, Welles et al., 2015).

#### 2.4.4.2 pH

Το pH επηρεάζει άμεσα την ανάπτυξη των διαφόρων βακτηρίων τα οποία παρουσιάζουν διαφορετικές αντοχές στη μεταβολή αυτού. Έτσι, κάποιοι μικροοργανισμοί αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι άλλων για συγκεκριμένες τιμές του pH σε ένα βιοαντιδραστήρα ή σε μία ΕΕΛ.

Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι τόσο ο αναερόβιος όσο και ο αερόβιος μεταβολισμός των PAOs ευνοούνται κυρίως σε αλκαλικό pH μεταξύ 7,5 και 8. Σύμφωνα με τους Filipe et al., 2001a, τα PAOs προσλαμβάνουν το οξικό οξύ με τον ίδιο ρυθμό για pH μεταξύ 6,5 και 8 υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Ωστόσο, τα GAOs αναχαιτίζονται με την αύξηση του pH, καθώς ο ρυθμός πρόσληψης του οξικού οξέος παρουσιάζει σημαντική μείωση. Οι ενεργειακές απαιτήσεις των GAOs για την πρόσληψη του οξικού οξέος αυξάνονται σε αλκαλικό περιβάλλον. Έτσι, η ποσότητα του διαθέσιμου γλυκογόνου δεν αρκεί για την πρόσληψη του οξικού οξέος, καθώς το γλυκογόνο αποτελεί τη μοναδική πηγή ενέργειας και άνθρακα για τα GAOs (Filipe et al., 2001b). Υπό αναερόβιες συνθήκες, τα GAOs προσλαμβάνουν με μεγαλύτερο ρυθμό το οξικό οξύ από τα PAOs για pH μικρότερο του 7,25. Έτσι, το pH πρέπει να διατηρείται μεγαλύτερο του 7,25, έτσι ώστε τα PAOs να επικρατούν έναντι των GAOs υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Επίσης, το pH επηρεάζει άμεσα την αερόβια πρόσληψη φωσφόρου, καθώς τα πολυφωσφορικά βακτήρια αναχαιτίζονται για pH μικρότερο του 6,5. Αντιθέτως, ο αερόβιος μεταβολισμός των GAOs δεν επηρεάζεται για τιμές του pH μεταξύ 6,5 και 7,5. Έτσι, το pH της αερόβιας φάσης θα πρέπει να διατηρείται ουδέτερο προς αλκαλικό με σκοπό την επικράτηση των PAOs έναντι των GAOs (Filipe et al., 2001a). Σύμφωνα με τους Oehmen et al., 2005c, η αύξηση του pH από 7 σε 8 οδήγησε στη βελτίωση της απόδοσης της EBPR στον αντιδραστήρα που τροφοδοτήθηκε με οξικό οξύ, αναχαιτίζοντας το μικροβιακό πληθυσμό των GAOs. Ωστόσο, οι υψηλές τιμές του pH δεν ευνοούν ούτε τον αναερόβιο ούτε τον αερόβιο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Οι Oehmen et al., 2005c παρατήρησαν ότι τα PAOs προσλαμβάνουν με μικρότερο ρυθμό τα VFAs για τιμές του pH μεταξύ 8 και 8,5.

Η εφαρμογή ενός on-line συστήματος παρακολούθησης των περιβαλλοντικών παραμέτρων, όπως το pH, το DO παρέχει τη δυνατότητα ρύθμισης του pH με τη προσθήκη είτε οξέος (HCL) είτε βάσης (NACL) στο ανάμεικτο υγρό ενός βιοαντιδραστήρα. Η μέθοδος αυτή στοχεύει στη δημιουργία των κατάλληλων συνθηκών λειτουργίας για την ανάπτυξη συγκεκριμένων μικροβιακών ομάδων, όπως τα πολυφωσφορικά, νιτροποιητικά βακτήρια. Η τιμή του pH μεταβάλλεται ανάλογα με τις βιολογικές διεργασίες που επιτελούνται σε ένα σύστημα βιολογικής απομάκρυνσης θρεπτικών. Συγκεκριμένα, η τιμή του pH μειώνεται κατά την παραγωγή των απλών οργανικών ενώσεων (Short Chain Fatty Acids-SCFAs) υπό αναερόβιες συνθήκες. Επίσης, ο σχηματισμός των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs και η έκλυση των ορθοφωσφορικών οδηγούν στην παραγωγή ιόντων υδρογόνου τα οποία μειώνουν το pH κατα τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Έπειτα, η τιμή του pH αυξάνεται κατά την αερόβια πρόσληψη φωσφόρου, καθώς παράγεται CO2 και OH<sup>-</sup>. Ωστόσο, η ταυτόχρονη νιτροποίηση μειώνει το pH με την παραγωγή ιόντων υδρογόνου (H<sup>+</sup>). Έτσι, η διαδικασία της απονιτροποίησης είναι αναγκαία για την εξισορρόπηση της τιμής του pH στα περισσότερα συστήματα επεξεργασίας με ταυτόχρονη απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου (Yuan et al., 2020). Επίσης, η πλήρης απονιτροποίηση σε συνδυασμό με το σωστό σχεδιασμό της εσωτερικής ανακυκλοφορίας της ενεργού ιλύος από την ανοξική στην αναερόβια φάση λειτουργίας δεν επιτρέπουν την παρουσία των NO<sub>x</sub>-N στην αναερόβια φάση λειτουργίας σε μία ΕΕΛ (Lopez-Vazquez et al., 2009a).

Η ρύθμιση του pH αποτελεί μία αποτελεσματική και οικονομική μέθοδο για την επικράτηση των PAOs έναντι των GAOs ακόμη και σε μία ΕΕΛ. Βέβαια, ο ανταγωνισμός μεταξύ των PAOs και των GAOs επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες εκτός του pH οι οποίοι θα εξεταστούν παρακάτω με σκοπό τη σταθερή απόδοση της EBPR τόσο σε εργαστηριακή όσο και σε πλήρη κλίμακα.

#### 2.4.4.3 Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία επηρεάζει άμεσα τον καθαρό ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών, καθώς η μείωση της θερμοκρασίας οδηγεί στην αύξηση του χρόνου παραμονής των στερεών. Επίσης, οι χαμηλές θερμοκρασίες αναχαιτίζουν τις μεταβολικές διεργασίες των διαφόρων βακτηρίων. Όσον αφορά τον ανταγωνισμό μεταξύ των PAOs-GAOs, η θερμοκρασία αποτελεί μία από τις βασικές παραμέτρους για την επικράτηση των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά τη διαδικασία της EBPR τόσο σε εργαστηριακούς βιοαντιδραστήρες όσο και σε μία ΕΕΛ.

Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά ευρήματα, τα PAOs είναι ψυχρόφιλα (10-20°C), ενώ τα GAOs μεσόφιλα (20-30°C). Κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό των GAOs, η βιοχημική οδός της γλυκόλυσης αναχαιτίζεται σε χαμηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα τα GAOs να μην διαθέτουν την απαραίτητη ενέργεια και το δυναμικό αναγωγής, έτσι ώστε να προσλάβουν τα VFAs και να τα μετατρέψουν σε εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs. Έτσι, η ποσότητα των PHAs δεν επαρκεί για την ανάπτυξη της βιομάζας των GAOs, τη συντήρηση του κυττάρου και την αναπλήρωση του γλυκογόνου υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας (Lopez-Vazquez et al., 2009b). Από την άλλη πλευρά, τα GAOs προσλαμβάνουν την οργανική τροφή (οξικό οξύ) με μεγαλύτερο ρυθμό από τα PAOs σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 20 °C τόσο σε βραχυπρόθεσμες όσο και σε μακροχρόνιες συνθήκες λειτουργίας. Η αερόβια στοιχειομετρία των GAOs δεν επηρεάζεται αρνητικά σε θερμοκρασίες μεταξύ 10 και 30 °C. Ωστόσο, τα GAOs αναχαιτίζονται για θερμοκρασία μεγαλύτερη των 35 °C, καθώς οι ενεργειακές τους απαιτήσεις για τη συντήρηση του κυττάρου ξεπερνούν αυτές για την ανάπτυξη της βιομάζας υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Τα PAOs

μπορούν να επικρατήσουν έναντι των GAOs ακόμη και σε θερμοκρασίες μεταξύ 20 και 30°C, μειώνοντας το χρόνο παραμονής των στερεών. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι ο ελάχιστος αερόβιος χρόνος παραμονής των στερεών των GAOs (SRT<sup>AER</sup><sub>MIN,GAO</sub>) είναι μεγαλύτερος από αυτόν των PAOs (SRT<sup>AER</sup><sub>MIN,PAO</sub>). Ο εγκλιματισμός της βιομάζας στις διάφορες θερμοκρασίες αποτελεί σημαντικό παράγοντα στον ανταγωνισμό των PAOs-GAOs (Lopez-Vazquez et al., 2009b). Οι Lopez-Vazquez et al., 2009b παρατήρησαν ότι τα GAOs προσλαμβάνουν με σταθερό ρυθμό την οργανική τροφή υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας σε θερμοκρασίες μεταξύ 20 και 35 °C, έπειτα από τη μακροχρόνια έκθεσή τους σε αυτες. Οι Ong et al., 2014 μελέτησαν τον αναερόβιο και αερόβιο μεταβολισμό των PAOs σε δύο αντιδραστήρες τύπου SBR οι οποίοι λειτουργούσαν για T=28°C (SBR 1) και T=24-32°C (SBR 2). Η απόδοση της EBPR ήταν σταθερή και η συγκέντρωση του φωσφόρου στην εκροή των δύο βιοαντιδραστήρων ήταν μικρότερη του 1 mg/L με αποτέλεσμα τα PAOs να επικρατούν έναντι των GAOs σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 20 °C. Ωστόσο, η έλλειψη εγκλιματισμού της βιομάζας στον SBR 2 οδήγησε στη συσσώρευση του φωσφόρου στην εκροή του βιοαντιδραστήρα κατά το αρχικό στάδιο λειτουργίας. Επίσης, η συνύπαρξη των PAOs και των GAOs στους 32 °C δεν προκάλεσε μείωση του ποσοστού απομάκρυνσης φωσφόρου κατά την αερόβια φάση λειτουργίας. Το γεγονός αυτό συνδέεται με την αντοχή της υποομάδας IIF των PAO ΙΙ στις υψηλές θερμοκρασίες. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη έρευνα, ο αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs είναι πιο ευαίσθητος από τον αερόβιο για T=20-35°C. Οι Lopez-Vazquez et al., 2009a αξιολόγησαν τη συνδυασμένη επίδραση του είδους της πηγής άνθρακα, του pH και της θερμοκρασίας στον ανταγωνισμό των PAOs-GAOs. Τα PAOs επικράτησαν έναντι των GAOs σε θερμοκρασία ίση με 10 °C, ανεξαρτήτως του είδους της οργανικής τροφής και της τιμής του pH. Το ίδιο συνέβη με τη μικροβιακή κοινότητα των GAOs σε υψηλές θερμοκρασίες (30 °C). Επίσης, το pH δεν επηρέασε το μεταβολισμό των PAOs, καθώς το οξικό και το προπιονικό οξύ βρίσκονταν σε ποσοστό 75% και 25% ή 50% και 50%, αντίστοιχα, και η θερμοκρασία ήταν ίση με 20°C. Ωστόσο, τα PAOs επικρατούν έναντι των GAOs για pH μεγαλύτερο του 7,5 όταν το οξικό ή το προπιονικό οξύ χρησιμοποιείται ως μοναδική πηγή άνθρακα σε μέσες θερμοκρασίες (20 °C). Ακόμη, τα PAOs αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των GAOs με τη χρήση μικτής τροφής (οξικό-

προπιονικό σε ποσοστό 75-25% ή 50-50%, αντίστοιχα) σε pH μεγαλύτερο του 7,5, ακόμα και σε υψηλές θερμοκρασίες (30°C). Τα Alphaproteobacteria GAOs ανταγωνίζονται αποτελεσματικότερα τα PAOs όταν το προπιονικό οξύ αποτελεί την κύρια πηγή άνθρακα σε υψηλές θερμοκρασίες (30°C) και σε ουδέτερο προς όξινο pH. Σύμφωνα με τους Tian et al., 2013, οι διαφορετικοί τύποι των PAOs (PAO I, PAO II) επηρεάζονται διαφορετικά απο τη μεταβολή της θερμοκρασίας και του αερόβιου χρόνου παραμονής των στερεών. Τα ΡΑΟ Ι επικρατούν έναντι των GAOs και των ΡΑΟ ΙΙ σε χαμηλές θερμοκρασίες (10 °C) και για μικρό αερόβιο χρόνο παραμονής των στερεών (6 ημέρες). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο αναερόβιος μεταβολισμός των GAOs και συγκεκριμένα η διαδικασία της γλυκόλυσης αναχαιτίζεται σε χαμηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα η μικροβιακή αυτή ομάδα να μην μπορεί να προσλάβει και να μετατρέψει τα διαθέσιμα VFAs σε εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs. Οι Brdjanovic et al., 1998 συνέδεσαν άμεσα τη θερμοκρασία με τον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs, καθώς ο αερόβιος ρυθμός διάσπασης των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs μειώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Έτσι, τα PAO II χρειάζονται μεγαλύτερο χρόνο παραμονής των στερεών από τα PAO I για την οξείδωση των PHAs με σκοπό την παραγωγή της απαραίτητης ενέργειας για την ανάπτυξη της βιομάζας σε χαμηλή θερμοκρασία (10°C) υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας (Tian et al., 2013).

Η θερμοκρασία και κατ επέκταση ο χρόνος παραμονής των στερεών παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη τόσο των πολυφωσφορικών όσο και των νιτροποιητικών βακτηρίων σε συστήματα ενεργού ιλύος. Όπως έχει ήδη αναφερθεί και στην ενότητα 2.3, τα NOB αναχαιτίζονται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 25°C, έτσι ώστε να επιτευχθεί η διαδικασία της νιτρωδοποίησης. Έτσι, ο χρόνος παραμονής των στερεών αποτελεί τη βασική παράμετρο για την επίτευξη της διαδικασίας της νιτρωδοποίησης και της ταυτόχρονης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου.

# 2.4.4.4 Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) και χρόνος παραμονής των στερεών (SRT)

Οι λειτουργικές παράμετροι επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και κατ επέκταση τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στην εκροή των βιολογικών

συστημάτων επεξεργασίας. Η διάρκεια της αναερόβιας φάσης λειτουργίας καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την απόδοση της EBPR. Από τη μία πλευρά, οι εξαιρετικά μικροί αναερόβιοι χρόνοι παραμονής οδηγούν στην αδυναμία των PAOs να αφομοιώσουν και να μετατρέψουν τα VFAs σε εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs με αποτέλεσμα την αναχαίτιση της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου. Από την άλλη πλευρά, η μεγάλη διάρκεια της αναερόβιας φάσης λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε δευτερογενή έκλυση φωσφόρου, χωρίς να υπάρχει διαθέσιμος δότης ηλεκτρονίων (COD). Έτσι, τα PAOs εκλύουν παραπάνω ποσότητα φωσφόρου από αυτή που μπορούν να απομακρύνουν, καθώς η συγκέντρωση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs δεν επαρκεί για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών τους υπό αερόβιες/ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Επίσης, ο παρατεταμένος αερόβιος/ανοξικός χρόνος λειτουργίας μπορεί να προκαλέσει έλλειψη αποδέκτη ηλεκτρονίων (O2, NOx-N) με αποτέλεσμα τη δευτερογενή έκλυση φωσφόρου και την αναχαίτιση των PAOs/DPAOs. Η αναχαίτιση των απονιτροποιητικών πολυφωσφορικών βακτηρίων μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση των νιτρωδών και επομένως στην αύξηση της συγκέντρωσης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στο ανάμεικτο υγρό (Wang et al., 2009, 2013). Σύμφωνα με τους Carvalheira et al., 2014c, η διάρκεια του αερόβιου χρόνου επηρεάζει τον ανταγωνισμό μεταξύ των PAOs και των GAOs. Ο παρατεταμένος χρόνος αερισμού οδήγησε στην εξάντληση αποδέκτη ηλεκτρονίων και στην πλήρη διάσπαση των εσωτερικά του αποθηκευμένων PHAs με αποτέλεσμα τα PAOs να καταναλώσουν το διαθέσιμο γλυκογόνο και τις ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες, εκλύοντας φώσφορο στο τέλος της αερόβιας φάσης λειτουργίας. Συνεπώς, τα GAOs απέκτησαν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των PAOs στην αναερόβια φάση του επόμενου κύκλου λειτουργίας, καθώς τα PAOs δεν διέθεταν την απαραίτητη ποσότητα των ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων για την πρόσληψη και τη μεταφορά των VFAs στο εσωτερικό του κυττάρου.

Οι Chen et al., 2013 πέτυχαν ταυτόχρονη απομάκρυνση Ν, Ρ μέσω της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και της EBPR σε Α/Ο/Α αντιδραστήρα τύπου SBR. Αρχικά, ο παρατεταμένος αερισμός προκάλεσε εξάντληση των PHAs και παραγωγή περίσσειας ποσότητας γλυκογόνου με αποτέλεσμα τα GAOs να

επικρατήσουν έναντι των PAOs στην ανοξική φάση λειτουργίας. Η μείωση της διάρκειας του αερισμού (2,5h) οδήγησε στην αναχαίτιση των NOB και κατ επέκταση στην εξοικονόμηση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs. Έτσι, τα PAOs χρησιμοποίησαν τα PHAs ως πηγή ενέργειας και άνθρακα με δέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρώδη, πετυχαίνοντας ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου κατά την ανοξική φάση λειτουργίας. Επίσης, η διάρκεια της ανοξικής φάσης και το φορτίο του αμμωνιακού αζώτου στην είσοδο του βιοαντιδραστήρα παίζουν καθοριστικό ρόλο στην αποφυγή της δευτερογενούς έκλυσης του φωσφόρου, λόγω της έλλειψης αποδέκτη ηλεκτρονίων.

Όσον αφορά το χρόνο παραμονής των στερεών, τα GAOs επικρατούν έναντι των PAOs για μεγάλο SRT. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι τα PAOs χρησιμοποιούν το μεγαλύτερο μέρος της παραγόμενης ενέργειας για τη συντήρηση του κυττάρου τους παρά για την ανάπτυξη της βιομάζας για μεγάλο χρόνο παραμονής στερεών (50 ημέρες) υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας (Yoon et al., 2004). Σύμφωνα με τους Zeng et al., 2014, τα GAOs ανταγωνίζονται αποτελεσματικότερα τα PAOs για SRT ίσο με 20 ημέρες. Ωστόσο, οι μικροί χρόνοι παραμονής των στερεών μπορούν να οδηγήσουν στην απομάκρυνση της βιομάζας των PAOs από το βιολογικό σύστημα επεξεργασίας και στην επικράτηση των τυπικών ετεροτροφικών μικροοργανισμών (Zeng et al., 2014). Ο αερόβιος χρόνος παραμονής των στερεών καθορίζει το συνολικό SRT, καθώς η ενέργεια για την ανάπτυξη της βιομάζας των PAOs παράγεται κατά την αερόβια οξείδωση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs (Brdjanovic et al., 1998). Έτσι, ο ελάχιστος απαιτούμενος αερόβιος χρόνος παραμονής των στερεών (SRT<sup>AER</sup>MIN, PAO) υπολογίζεται με βάση το ρυθμό οξείδωσης και τη διαθέσιμη συγκέντρωση των αποθηκευμένων PHAs στο εσωτερικό του κυττάρου των PAOs. Οι Brdjanovic et al., 1998 υπολόγισαν τον SRT<sup>AER</sup>MIN, PAO με βάση τη μέγιστη συγκέντρωση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs, τα οποία σχηματίστηκαν κατά την αναερόβια φάση λειτουργίας, σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, ο αριθμός των κύκλων λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα. Γενικά, τα PAOs έχουν μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης από τα GAOs με αποτέλεσμα ο ελάχιστος απαιτούμενος αερόβιος SRT για τα PAOs να είναι μικρότερος από αυτόν των GAOs. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην ενότητα 2.4.4.3 η

διαφορά αυτή μεγαλώνει σε θερμορασίες κάτω των 20 °C, διότι τα GAOs χρησιμοποιούν την ενέργεια από την οξείδωση των PHAs για την αναπλήρωση του γλυκογόνου παρά για την ανάπτυξη της βιομάζας και τη συντήρηση του κυττάρου κατά τον αερόβιο αναβολισμό τους. (Lopez-Vazquez et al., 2009b). Επίσης, η συγκέντρωση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs αυξάνεται με την αύξηση των κύκλων λειτουργίας σε έναν αναερόβιο/αερόβιο/ανοξικό βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Επομένως, ο ελάχιστος αερόβιος χρόνος παραμονής των στερεών μειώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των PHAs. Ο αριθμός των κύκλων λειτουργίας αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην απόδοση της EBPR, κυρίως σε υψηλές θερμοκρασίες. Η μείωση των κύκλων λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα αυξάνουν τον αερόβιο χρόνο παραμονής των στερεών, ιδιαίτερα σε θερμά κλίματα (Brdjanovic et al., 1998).

Σύμφωνα με τις περισσότερες ερευνητικές δραστηριότητες, ο κατάλληλος SRT ορίζεται περίπου στις δέκα ημέρες για την ανάπτυξη και την επικράτηση των PAOs έναντι των GAOs (Zeng et al., 2014). Οι Roots et al., 2020 εφάρμοσαν χρόνο παραμονής στερεών ίσο με 9,2 ± 1,8 ημέρες για την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου μέσω της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Οι Yuan et al., 2020 επέλεξαν SRT ίσο με 12 ημέρες και πέτυχαν απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου σε ποσοστό 81,4 και 94,3%, αντίστοιχα, μέσω της νιτρωδοποίησης-απονιτρώδοποίησης και της EBPR σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Η επιλογή μικρού SRT και επαρκούς συγκέντρωσης COD στην είσοδο του SBR έδωσε πλεονέκτημα τόσο στα AOB όσο και στα PAOs να αναπτυχθούν έναντι των ανταγωνιστών τους (NOB, GAOs). Οι Zhao et al., 2018 εφάρμοσαν αερόβιο χρόνο παραμονής των στερεών ίσο με 12,5 ημέρες μέσω της απόρριψης της περίσσειας ιλύος στο τέλος της ανοξικής φάσης λειτουργίας, πετυχαίνοντας σταθερή απομάκρυνση φωσφόρου. Επίσης, η προσθήκη επαρκούς ποσότητας COD στην αρχή της αναερόβιας φάσης λειτουργίας ευνόησε τη μετέπειτα ενδογενή απονιτρωδοποίηση. ετεροτροφικοί Οι τυπικοί απονιτροποιητικοί μικροοργανισμοί απομάκρυναν τα NO<sub>X</sub>-N και έπειτα τα απονιτροποιητικά πολυφωσφορικά βακτήρια χρησιμοποίησαν τα εσωτερικά
αποθηκευμένα PHAs ως πηγή ενέργειας και άνθρακα για την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου κατά την ανοξική φάση λειτουργίας.

#### 2.4.4.5 Νιτρικά/Νιτρώδη στην αναερόβια φάση λειτουργίας

Η παρουσία των NO<sub>x</sub>-N (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) στο αναερόβιο τμήμα λειτουργίας ενός βιοαντιδραστήρα αποτελεί μία από τις πιο σημαντικές αιτίες αστοχίας της EBPR. Η είσοδος των νιτρικών ή των νιτρωδών μέσω της ανακυκλοφορούμενης ιλύος στην αναερόβια φάση λειτουργίας ενός εργαστηριακού βιοαντιδραστήρα ή μιας ΕΕΛ συνήθως οφείλεται στη μη επαρκή απονιτροποίηση υπό ανοξικές συνθήκες. Η πιθανότητα εμφάνισης των NO<sub>x</sub>-N στην αναερόβια φάση λειτουργίας αυξάνεται στα μονοβάθμια συστήματα επεξεργασίας, όπως οι βιοαντιδραστήρες τύπου SBR όπου οι βιολογικές διεργασίες λαμβάνουν χώρα στον ίδιο αντιδραστήρα (Zheng et al., 2014, Guerrero et al., 2011).

Τα PAOs προσλαμβάνουν την οργανική τροφή με τη μορφή VFAs τα οποία μετατρέπουν σε εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs, υδρολύοντας τις ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Έπειτα τα PAOs έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν τα ορθοφωσφορικά για την αναπλήρωση των ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων, χρησιμοποιώντας τα PHAs ως πηγή άνθρακα και ενέργειας υπό αερόβιες/ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Η παρουσία δέκτη ηλεκτρονίων δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στους απονιτροποιητικούς ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς να καταναλώσουν τη διαθέσιμη πηγή άνθρακα, χρησιμοποιώντας τα νιτρικά ή τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Η επαρκής συγκέντρωση των VFAs αποτελεί βασική προϋπόθεση για την επίτευξη της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου ακόμη και υπό τη παρουσία δέκτη ηλεκτρονίων υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας (Guerrero et al., 2011). Οι Guerrero et al., 2011 χρησιμοποίησαν έναν βιοαντιδραστήρα ο οποίος τροφοδοτήθηκε από μείγμα οξικού, προπιονικού οξέος και σακχαρόζης, εναλλάσσοντας τις συνθήκες λειτουργίας από ανοξικές σε αερόβιες. Η μικτή τροφή εξασφάλισε την επαρκή ποσότητα των πτητικών λιπαρών οξέων, δίνοντας προτεραιότητα στα PAOs έναντι των τυπικών ετεροτροφικών απονιτροποιητών να καταναλώσουν τη διαθέσιμη πηγή άνθρακα υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας. Η χρήση της σακχαρόζης ως οργανικό υπόστρωμα αναχαίτισε τη δράση τόσο των

ζυμωτικών όσο και των πολυφωσφορικών βακτηρίων υπό τη παρουσία δέκτη ηλεκτρονίων. Συνεπώς, η συγκεκριμένη οργανική ένωση έδωσε πλεονέκτημα στα τυπικά απονιτροποιητικά βακτήρια να καταναλώσουν τη διαθέσιμη πηγή άνθρακα, απομακρύνοντας τα νιτρικά κατά την ανοξική φάση. Η προσθήκη του οξικού οξέος στην είσοδο του ανοξικού/οξικού βιοαντιδραστήρα οδήγησε στην επικράτηση των ετερότροφων απονιτροποιητών έναντι των PAOs. Τα DPAOs κατάφεραν να επικρατήσουν έναντι των ετεροτροφικών απονιτροποιητικών βακτηρίων, πετυχαίνοντας ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου με δέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρικά/νιτρώδη σε συνθήκες ανεπαρκούς ποσότητας οργανικής τροφής, χρησιμοποιώντας τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs ως πηγή άνθρακα και ενέργειας.

Οι Zeng et al., 2011 χρησιμοποίησαν δύο Α/Ο βιοαντιδραστήρες τύπου SBR με σκοπό να εξετάσουν την επίδραση των διαφορετικών συγκεντρώσεων των νιτρωδών (10, 20, 30 mg NO<sub>2</sub>-N/L) στην εγκλιματισμένη (SBR1) και στη μη εγκλιματισμένη (SBR2) βιομάζα των PAOs υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας μέσω πειραμάτων τύπου batch. Η επίδραση των νιτρωδών ήταν σχεδόν ίδια και στις δύο βιομάζες των PAOs. Η έκλυση του φωσφόρου από τα PAOs και ο σχηματισμός των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs αναχαιτίστηκαν για συγκέντρωση νιτρωδών μεγαλύτερη από 20 mg NO<sub>2</sub>-N/L και ανεπαρκή ποσότητα οργανικού υποστρώματος. Υπό αυτές τις συνθήκες, τα απονιτροποιητικά βακτήρια απέκτησαν πλεονέκτημα έναντι των PAOs με αποτέλεσμα την κατανάλωση της διαθέσιμης πηγής άνθρακα με αποδέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρώδη, λόγω της ανεπαρκούς απονιτρωδοποίησης στην αρχή της αναερόβιας/ανοξικής φάσης. Τέλος, η προσθήκη εξωτερικής πηγής άνθρακα επέτρεψε την ταυτόχρονη απομάκρυνση των νιτρωδών και το σχηματισμό των PHAs από τα τυπικά ετεροτροφικά απονιτροποιητικά και τα πολυφωσφορικά βακτήρια, αντίστοιχα. Ωστόσο, μία μικρή μείωση παρατηρήθηκε στην εκλυόμενη ποσότητα του φωσφόρου κατά την αναερόβια φάση λειτουργίας, εξαιτίας του ανταγωνισμού των PAOs και των DGAOs για την πρόσληψη της διαθέσιμης πηγής άνθρακα.

#### 2.4.4.6 Συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου (DO)

Τα PAOs είναι πιο ανθεκτικά από τα GAOs σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου. Οι Carvalheira et al., 2014c καλλιέργησαν βιομάζα πολυφωσφορικών βακτηρίων τροφοδοτούμενη από οξικό, προπιονικό οξύ σε αναλογία 75-25%, αντίστοιχα, (SBR 1) και βιομάζα GAOs τροφοδοτούμενη από οξικό οξύ (SBR 2). Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου στους δύο βιοαντιδραστήρες ήταν μεταξύ 2 και 8 mg/L. Ο SBR 1 πέτυχε υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης φωσφόρου και στις δύο συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου. Ωστόσο, τόσο η εκλυόμενη όσο και η προσλαμβανόμενη ποσότητα του φωσφόρου αυξήθηκαν με τη μείωση του DO από 8 σε 2 mg/L. Η επικράτηση των PAOs έναντι των GAOs επαληθεύτηκε από τη σύσταση των PHAs, καθώς η συγκέντρωση των PHB ήταν μεγαλύτερη στις χαμηλές συγκεντρώσεις του DO. Αντιθέτως, οι συγκεντρώσεις των PHV και PHMV αυξήθηκαν όταν η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου ήταν ίση με 8 mg/L, υποδεικνύοντας την επικράτηση των GAOs έναντι των PAOs. Επίσης, η κατανάλωση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs και η παραγωγή του γλυκογόνου από τα GAOs αναχαιτίζεται σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό από την κατανάλωση των PHAs και την πρόσληψη του φωσφόρου από τα PAOs σε χαμηλές συγκεντρώσεις  $\delta$ ιαλυμένου oξυγόνου (0,6 mg/L) (Carvalheira et al., 2014c).

#### 2.4.4.7 Νιτρώδη και ελεύθερο νιτρικό οξύ (FNA)

Η απομάκρυνση του αζώτου και του φωσφόρου πραγματοποιείται στον ίδιο βιοαντιδραστήρα ή βιολογικό καθαρισμό μιας ΕΕΛ. Ωστόσο, οι απαιτήσεις σε οργανικό άνθρακα είναι αρκετά υψηλές λόγω της ταυτόχρονης απομάκρυνσης θρεπτικών μέσω της νιτροποίησης-απονιτροποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Γι'αυτό το λόγο, η προσθήκη εξωτερικής πηγής άνθρακα είναι αναγκαία, κυρίως κατά την επεξεργασία αποβλήτων με χαμηλό λόγο C/N. Η εφαρμογή της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης μειώνει τη ζήτηση σε πηγή άνθρακα, αλλά μπορεί να προκαλέσει τη συσσώρευση νιτρώδους αζώτου. Η έκθεση των πολυφωσφορικών βακτηρίων στις συγκεντρώσεις νιτρωδών είναι αναπόφευκτη σε βιολογικά συστήματα επεξεργασίας με ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου. Όπως έχει περιγραφεί αναλυτικά στην ενότητα 2.3, τα νιτρώδη σε συνδυασμό με το οξύ (Η<sup>+</sup>) που παράγεται κατά τη διαδικασία της

νιτρωδοποίησης σχηματίζουν το ελεύθερο νιτρώδες οξύ το οποίο έχει αναχαιτιστική έως και τοξική δράση στις μεταβολικές διεργασίες τόσο των νιτροποιητικών όσο και των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Η συγκέντρωση του FNA εξαρτάται από τη συγκέντρωση των νιτρωδών, τη θερμοκρασία και το pH. Η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο των Anthonisen et al., 1976 (ενότητα 2.3) και τείνει να αυξάνεται με τη μείωση του pH.

Η ανοχή των PAOs στο FNA επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως ο εγκλιματισμός της βιομάζας στα νιτρώδη, η σύσταση και η προέλευση των προς επεξεργασία αποβλήτων, οι λειτουργικές, περιβαλλοντικές παράμετροι των συστημάτων επεξεργασίας. Οι Zeng et al., 2014 χρησιμοποίησαν βιοαντιδραστήρα τύπου SBR ο οποίος τροφοδοτήθηκε με συνθετικά λύματα. Η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου (αναβολισμός) αναχαιτίστηκε σε ποσοστό 43,5% και 85,4% για συγκέντρωση FNA ίση με 0,47x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L (2 mg NO<sub>2</sub>-N/L) και 2,37x10<sup>-3</sup> mg  $HNO_2$ -N/L (10 mg NO<sub>2</sub>-N/L), αντίστοιχα, για pH ίσο με 7. Η αερόβια οξείδωση των εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs (καταβολισμός) αναχαιτίστηκε σε ποσοστό 75,5% για την ίδια συγκέντρωση νιτρωδών (10 mg NO<sub>2</sub>-N/L). Ωστόσο, οι αναβολικές διεργασίες των PAOs ήταν πιο ανθεκτικές για την ίδια συγκέντρωση FNA (2,37x10<sup>3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR ο οποίος τροφοδοτήθηκε με αστικά απόβλητα και πραγματοποιούσε ταυτόχρονη απομάκρυνση θρεπτικών μέσω της διαδικασίας της νιτροποίησης και της EBPR. Η διαφορά αυτή πιθανώς προκύπτει από τη ποικιλομορφία των μικροβιακών πληθυσμών που αναπτύσσονται στη βιομάζα των βιοαντιδραστήρων κατά την επεξεργασία αποβλήτων διαφορετικής προέλευσης και σύστασης (Zeng et al., 2014). Σύμφωνα με διάφορες μελέτες, ο αναβολισμός των PAOs αναχαιτίζεται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις νιτρωδών σε σχέση με τον καταβολισμό. Η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου, η ανάπτυξη της βιομάζας και η αναπλήρωση του γλυκογόνου και των ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων αναχαιτίζονται σε ποσοστό 50% για συγκεντρώσεις FNA μεταξύ 0,36x10<sup>-3</sup> και 0,52x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L, οι οποίες αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις νιτρωδών μεταξύ 1,5 και 2,2 mg NO<sub>2</sub>-N/L σε pH ίσο με 7. Η πλήρη αναχαίτιση των αναβολικών διεργασιών των PAOs πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση FNA ίση με 6x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L. Αντιθέτως, το συνολικό ποσοστό

αναχαίτισης της αερόβιας διάσπασης των PHAs κυμαίνεται μεταξύ 40 και 50%, ακόμη και για αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (9,5x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) (Pijuan et al., 2010).

Η μακροχρόνια έκθεση των PAOs σε υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών κατά την αερόβια και ανοξική φάση λειτουργίας αυξάνει την αντοχή τους στο FNA σε συστήματα νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης με ταυτόχρονη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Οι Pijuan et al., 2010 και οι Sin et al., 2008 υποστήριξαν ότι η δυνατότητα των πολυφωσφορικών βακτηρίων να ανακάμψουν έπειτα από τη συσσώρευση των νιτρωδών εξαρτάται από τη συγκέντρωση του FNA και τη διάρκεια έκθεσης των PAOs στο ελεύθερο νιτρώδες οξύ. Έτσι, το FNA αποτελεί αναχαιτιστικό παρά τοξικό παράγοντα για την αερόβια πρόσληψη του φωσφόρου. Σύμφωνα με τους Sin et al., 2008, η αναχαίτιση του αερόβιου μεταβολισμού των PAOs από το FNA παρέμεινε σε ποσοστό 50% για pH ίσο με 7,5, έπειτα από τη μείωση της συγκέντρωσης των νιτρωδών από 10 σε 4 mg NO2-N/L από τα NOB. Ωστόσο, μία εγκλιματισμένη και μία μη εγκλιματισμένη βιομάζα πολυφωσφορικών βακτηρίων στις διάφορες συγκεντρώσεις του ελεύθερου νιτρώδους οξέος παρουσιάζουν ελάχιστη διαφορά στην αντοχή τους στο FNA (Pijuan et al., 2010). Βέβαια, η ανάκαμψη της εγκλιματισμένης βιομάζας των PAOs στο FNA πραγματοποιήθηκε πιο γρήγορα, έπειτα από την απομάκρυνση των υψηλών συγκεντρώσεων νιτρωδών και επομένως του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Η αερόβια δέσμευση φωσφόρου μπορεί να ανακάμψει εντός κάποιων ωρών, ακόμη και μετά την πλήρη αναχαίτισή της σε συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος μεταξύ 9,5x10<sup>-3</sup> και 16,6x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L, χρησιμοποιώντας μία εγκλιματιμσένη βιομάζα σε αντίστοιχες συγκεντρώσεις FNA. Επίσης, οι Zeng et al., 2014 παρατήρησαν ότι η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου δεν αναχαιτίστηκε σε συγκέντρωση νιτρωδών 40 mg NO2-N/L  $(3x10^{-3} \text{ mg HNO}_2 \text{-N/L})$  για pH ίσο με 7, έπειτα από τη μακροχρόνια έκθεση των PAOs στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με ταυτόχρονη απομάκρυνση Ν, Ρ μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και EBPR. Οι Yuan et al., 2020 και οι Zeng et al., 2011 παρατήρησαν ότι η απομάκρυνση φωσφόρου πραγματοποιήθηκε κυρίως κατά την πρώτη ώρα της αερόβιας φάσης λειτουργίας, προτού η διαδικασία της νιτρωδοποίησης ολοκληρωθεί. Έτσι, η

συγκέντρωση των νιτρωδών και κατ επέκταση του FNA δεν αποτέλεσε αναχαιτιστικό παράγοντα στον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην επικράτηση των PAOs έναντι των αυτοτροφικών βακτηρίων σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης διαλυμένου οξυγόνου (0,3-1,5 mg O<sub>2</sub>/L). Η συγκέντρωση του FNA ήταν ίση με 1,5x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L (20 mg NO<sub>2</sub>-N/L) στο τέλος της αερόβιας φάσης λειτουργίας.

Σύμφωνα με διάφορες πειραματικές μελέτες, η ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου αναχαιτίζεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νιτρωδών από την αερόβια πρόσληψη φωσφόρου από τα PAOs. Αυτό οφείλεται στην ικανότητα των PAOs να χρησιμοποιούν τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων με αποτέλεσμα η συγκέντρωση των νιτρωδών γύρω από το κύτταρο των πολυφωσφορικών βακτηρίων να είναι μικρότερη από αυτή στο ανάμεικτο υγρό υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας (Saito et al., 2004, Sin et al., 2008, Pijuan et al., 2010). Or Saito et al., 2004 χρησιμοποίησαν βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με σκοπό την καταγραφή του αερόβιου και του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης του φωσφόρου σε διάφορες συγκεντρώσεις νιτρωδών. Η ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου αναχαιτίστηκε σε ποσοστό 65% για συγκέντρωση νιτρωδών μεγαλύτερη από 3 mg NO<sub>2</sub>-N/L, αλλά παρέμεινε σταθερή καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος υπό τη παρουσία επαρκούς δέκτη ηλεκτρονίων (νιτρικά/νιτρώδη). Ο ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης του φωσφόρου μειώθηκε σε συγκέντρωση νιτρωδών μικρότερη από 3 mg NO<sub>2</sub>-N/L, λόγω της έλλειψης αποδέκτη ηλεκτρονίων (νιτρικά/νιτρώδη). Επίσης, η συγκέντρωση των νιτρωδών καθορίζει τη κατανομή των διαφορετικών τύπων και στελεχών των PAOs. Τα PAO Ι αναχαιτίζονται από την παρουσία των νιτρωδών, καθώς μπορούν να χρησιμοποιήσουν μόνο τα νιτρικά ως αποδέκτη ηλεκτρονίων υπό ανοξικές συνθήκες. Αντιθέτως, τα ΡΑΟ ΙΙ έχουν την ικανότητα μόνο να απονιτρωδοποιούν με αποτέλεσμα να επικρατούν έναντι των ΡΑΟ Ι σε υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών κατά την ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου (Zeng et al., 2016). Βεβαια, τα νιτρώδη αποτελούν τοξικό παράγοντα για τη διαδικασία της αναπνοής και την ανάπτυξη των διαφόρων μικροοργανισμών. Συνεπώς, η συγκέντρωση των νιτρωδών θα πρέπει να ελέγχεται τόσο κατά την αερόβια όσο και κατά την ανοξική φάση λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα (Saito et al., 2004).

Επίσης, ο ρυθμός συσσώρευσης των νιτρωδών συνδέεται άμεσα με την απόδοση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, κυρίως για τη βιολογική επεξεργασία αποβλήτων με χαμηλό λόγο C/N (Zeng et al., 2016). Σύμφωνα με τους Zeng et al., 2016, η υποομάδα IID των PAO II είναι η πιο ανθεκτική στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών κατά τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης, πετυχαίνοντας υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης φωσφόρου και αζώτου, χρησιμοποιώντας τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας.

Οι Sin et al., 2008 κατέγραψαν το ρυθμό απομάκρυνσης του φωσφόρου υπό αερόβιες και ανοξικές συνθήκες λειτουργίας σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Ο αερόβιος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου ήταν σχεδόν ίσος με τον ανοξικό, χρησιμοποιώντας τα νιτρώδη ως δέκτη ηλεκτρονίων. Ωστόσο, τα PAOs προτιμούν το οξυγόνο ως ηλεκτρονιακό δέκτη με σκοπό τη παραγωγή της απαραίτητης ενέργειας για την αναπλήρωση του γλυκογόνου, τη σύνθεση των πολυφωσφορικών αλυσίδων, τη συντήρηση του κυττάρου και την ανάπτυξη της βιομάζας. Ακόμη, οι Sin et al., 2008 παρατήρησαν ότι η αερόβια πρόσληψη του φωσφόρου αναχαιτίστηκε πλήρως για συγκέντρωση νιτρωδών 10 mg NO<sub>2</sub>-N/L στο βιοαντιδραστήρα τύπου SBR, ενώ ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης του φωσφόρου μειώθηκε σε ποσοστό 65% για την ίδια συγκέντρωση νιτρωδών στο βιοαντιδραστήρα τύπου MBR. Επίσης, η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου αναχαιτίστηκε σε ποσοστό 30% για συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 5 mg NO<sub>2</sub>-N/L στο βιοαντίδραστήρα τύπου SBR.

Οι Saito et al., 2004 εξέτασαν την επίδραση των νιτρωδών στην αερόβια, ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου, στη διαδικασία της απονιτροποίησης και στο ρυθμό κατανάλωσης του οξυγόνου. Η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου και οξυγόνου αναχαιτίστηκαν σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις νιτρωδών σε σχέση με την απονιτροποίηση και την ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου. Ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου αναχαιτίστηκε σε ποσοστό 90 και 97,5% σε συγκέντρωση νιτρωδών 2 και 6 mg NO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 7, αντίστοιχα. Η ανοξική πρόσληψη φωσφόρου παρέμεινε σε ποσοστό 65% για συγκέντρωση 12 mg NO<sub>2</sub>-N/L υπό την παρουσία επαρκούς δέκτη ηλεκτρονίων, ενώ η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου αναχαιτίστηκε πλήρως για την ίδια συγκέντρωση νιτρωδών. Επίσης, ο ρυθμός της απονιτροποίησης παρέμεινε σταθερός μεταξύ των διαφορετικών συγκεντρώσεων

νιτρωδών (0 έως 12 mg NO<sub>2</sub>-N/L). Ο ρυθμός κατανάλωσης του οξυγόνου μειώθηκε σε ποσοστό 50 και 80% για συγκέντρωση νιτρωδών 2 και 5 mg NO<sub>2</sub>-N/L, αντίστοιχα. Συνεπώς, η διαδικασία της πρόσληψης του φωσφόρου αναχαιτίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τις υπόλοιπες βιολογικές διεργασίες υπό την παρουσία νιτρωδών. Ωστόσο, οι Zeng et al., 2014 παρατήρησαν αναχαίτιση τόσο της ανοξικής απομάκρυνσης φωσφόρου από τα DPAOs όσο και της απονιτροποίησης από τους τυπικούς ετεροτροφικούς απονιτροποιητές για συγκέντρωση νιτρωδών 30 mg NO<sub>2</sub>-N/L. Επιπλέον, οι Sin et al., 2008 παρατήρησαν ότι τα PAOs απομακρύνουν το φώσφορο με μεγαλύτερο ρυθμό, χρησιμοποιώντας τα νιτρώδη αντί τα νιτρικά ως δέκτη ηλεκτρονίων κατά την ανοξική φάση λειτουργίας. Το γεγονός αυτό πιθανώς συνδέεται με τους διαφορετικούς τύπους των PAOs (PAO I, II) που αναπτύχθηκαν στη βιομάζα του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Τα PAOs πέτυχαν υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης φωσφόρου σε συγκεντρώσεις νιτρωδών μεγαλύτερες των 25 mg NO2-N/L, χρησιμοποιώντας τα νιτρώδη ως δέκτη ηλεκτρονίων υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας (Sin et al., 2008). Η ικανότητα των απονιτροποιητικών πολυφωσφορικών βακτηρίων να χρησιμοποιούν τα νιτρώδη και τα νιτρικά ως δέκτες ηλεκτρονίων οδηγεί στην ταυτόχρονη απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου με χαμηλή κατανάλωση εξωτερικής πηγής άνθρακα και ενέργειας για αερισμό (Oehmen et al., 2007, Roots et al., 2020).

Η συγκέντρωση του FNA επηρεάζει άμεσα τον ανταγωνισμό των PAOs-GAOs. Τα GAOs είναι πιο ανθεκτικά από τα PAOs στις υψηλές συγκεντρώσεις FNA, καθώς οι αναβολικές διεργασίες των PAOs αναχαιτίζονται σε μικρότερες συγκεντρώσεις ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Σύμφωνα με τους Pijuan et al., 2010, το ελεύθερο νιτρώδες οξύ αναχαιτίζει σε μεγαλύτερο βαθμό την αερόβια πρόσληψη φωσφόρου από τα PAOs σε σχέση με την αερόβια σύνθεση του γλυκογόνου από τα GAOs. Επίσης, τα PAOs χρειάζονται παραπάνω ποσότητα ενέργειας κατά την αερόβια φάση λειτουργίας, καθώς πρέπει να αναπληρώσουν τις ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες σε αντίθεση με τα GAOs που χρησιμοποιούν την ααραγόμενη ενέργεια για την αναπλήρωση του γλυκογόνου, τη συντήρηση και την ανάπτυξη της βιομάζας τους (Pijuan et al., 2010). Η αναχαίτιση της αερόβιας αλυσίδων εσωτερικά του κυττάρου των PAOs με αποτέλεσμα τα GAOs να ανταγωνίζονται αποτελεσματικότερα τα PAOs για την πρόσληψη της οργανικής τροφής κατά την αναερόβια φάση του επόμενου κύκλου λειτουργίας.

#### 2.4.5 Ελεύθερη αμμωνία (FA)

Η ελεύθερη αμμωνία παράγεται κατά τη διαδικασία της απονιτροποίησης, όπου το αμμωνιακό άζωτο ενώνεται με το ΟΗ<sup>-</sup> και σχηματίζουν τη μη ιονισμένη μορφή της αμμωνίας (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + OH<sup>-</sup> $\rightarrow$  NH<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O). Η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου, τη θερμοκρασία και το pH. Η αύξηση της τιμής του pH τείνει να αυξάνει τη συγκέντρωση της FA σύμφωνα με τον τύπο των Anthonisen et al., 1976 (ενότητα 2.3). Επίσης, η ελεύθερη αμμωνία σχηματίζεται πιο εύκολα κατά τη βιολογική επεξεργασία αποβλήτων τα οποία περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου, όπως τα διασταλάγματα από Χ.Υ.Τ.Α, τα στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή επεξεργασίας ιλύος των ΕΕΛ. Η απομάκρυνση τόσο του αζώτου όσο και του φωσφόρου πραγματοποιείται ταυτόχρονα μέσω της νιτροποίησης-απονιτροποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης του φωσφόρου στα σύγχρονα συστήματα επεξεργασίας. Συνεπώς, τόσο τα νιτροποιητικά όσο και τα πολυφωσφορικά βακτήρια εκτίθενται στις διάφορες συγκεντρώσεις της ελεύθερης αμμωνίας. Όπως έχει περιγραφεί αναλυτικά στην ενότητα 2.3, οι υψηλές συγκεντρώσεις της FA αναχαιτίζουν τα νιτροποιητικά βακτήρια. Ωστόσο, η επίδραση της FA στο μεταβολισμό των PAOs αποτελεί αντικείμενο περαιτέρω έρευνας, καθώς οι περισσότερες μελέτες αναφέρονται στην αναχαίτιση των PAOs από το FNA. Η αναχαίτιση της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου από τη συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος αποτελεί αντικείμενο μελέτης της παρούσας διπλωματικής εργασίας και θα προσδιοριστεί μέσω μιας σειράς πειραμάτων τύπου batch. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών θα παρουσιαστούν και θα αναλυθούν σε επόμενο κεφάλαιο. Σύμφωνα με τη μέχρι τώρα ερευνητική δραστηριότητα, το ελεύθερο νιτρώδες οξύ είναι πιο τοξικό από την ελεύθερη αμμωνία για τον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs, ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις.

Οι Freitas et al., 2009 διερεύνησαν την επίδραση των υψηλών συγκεντρώσεων αμμωνιακού αζώτου στις μεταβολικές διεργασίες των μικροοργανισμών οι οποίοι εκτελούν τη διαδικασία της νιτροποίησης-απονιτροποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Η συσσώρευση του αμμωνιακού αζώτου οδήγησε στο σχηματισμό της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Η αερόβια πρόσληψη του φωσφόρου αναχαιτίστηκε σε συγκέντρωση FNA ίση με 0,05x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L. Ωστόσο, η αναχαιτιστική συγκέντρωση της FA για το μεταβολισμό των PAOs δεν προσδιορίστηκε στη συγκεκριμένη πειραματική μελέτη. Η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνιάς (51 mgN/L) δεν επηρέασε τις μεταβολικές διεργασίες των AOB και NOB. Η μείωση της αναερόβιας, αερόβιας φάσης λειτουργίας δεν επέτρεψε στην FA και στο FNA να δράσουν αναχαιτιστικά στο μεταβολισμό των νιτροποιητικών, πολυφωσφορικών βακτηρίων. Επίσης, η μείωση της διάρκειας των κύκλων λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR έδωσε ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs έναντι των GAOs.

Οι Zheng et al., 2013 προσδιόρισαν τη συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας η οποία αναχαιτίζει την EBPR, χρησιμοποιώντας τέσσερις βιοαντιδραστήρες τύπου SBR ακινητοποιημένης βιομάζας με διαφορετικά εισερχόμενα φορτία αμμωνιακού αζώτου (20-600 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>–N/L). Ο μεταβολισμός των PAOs αναχαιτίστηκε σε συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας ίση με 17,76 mg N/L η οποία αντιστοιχεί σε 400 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>–N/L. Ο εγκλιματισμός της βιομάζας πραγματοποιήθηκε έπειτα από τη μακροχρόνια έκθεση των PAOs σε συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας ίση με 8,8 mg N/L (200 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>–N/L). Ωστόσο, η ανάκαμψη της μικροβιακής κοινότητας των πολυφωσφορικών βακτηρίων απέτυχε έπειτα από την πλήρη αναχαίτισή της σε συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας μεγαλύτερη από 400 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>–N/L. Το γεγονός αυτό συνδέθηκε με την επικράτηση των GAOs έναντι των PAOs, λόγω των υψηλών εισερχόμενων φορτίων αμμωνιακού αζώτου και των χαμηλών συγκεντρώσεων φωσφόρου. Τέλος, η συσσώρευση της FA οδήγησε σε αύξηση του δείκτη όγκου ιλύος από 60 σε 500 mL/g με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της καθιζησιμότητας και της μορφολογίας της ιλύος.

## 2.4.5.1 Συγκέντρωση θρεπτικών (οργανικός άνθρακας, φώσφορος, αμμωνιακό άζωτο)

Η συγκέντρωση των θρεπτικών (Ν, Ρ, C) παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την επίτευξη των βιολογικών διεργασιών τόσο σε μία ΕΕΛ όσο και σε ένα βιοαντιδραστήρα εργαστηριακής κλίμακας. Ωστόσο, η απότομη αύξηση των συγκεντρώσεων του οργανικού άνθρακα, του αμμωνιακού αζώτου, του φωσφόρου διαταράσσει τις μεταβολικές διεργασίες τόσο των νιτροποιητικών όσο και των πολυφωσφορικών βακτηρίων σε ένα βιολογικό σύστημα επεξεργασίας με νιτροποίηση-απονιτροποίηση και ταυτόχρονη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Η συγκέντρωση των θρεπτικών εξαρτάται κυρίως από την προέλευση των προς επεξεργασία αποβλήτων (στραγγίδια Χ.Υ.Τ.Α., στραγγίδια αφυδάτωσης). Η περιοδική διάθεση των βιομηχανικών αποβλήτων τείνει να αυξάνει κυρίως τη συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα, αλλά και των υπόλοιπων θρεπτικών (Ν, Ρ) στην είσοδο των ΕΕΛ (Freitas et al., 2009).

Οι Kim et al., 2008 μελέτησαν την επίδραση της συγκέντρωσης του αμμωνιακού αζώτου στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, χρησιμοποιώντας δύο βιοαντιδραστήρες τύπου SBR και SBBR (Sequencing Batch Biofilm Reactor). Η αύξηση της εισερχόμενης συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου από 20 σε 80 mg NH4+-N/L οδήγησε στην αύξηση του ρυθμού νιτροποίησης και στη μετέπειτα ανεπαρκή απονιτροποίηση, εξαιτίας της έλλειψης πηγής άνθρακα. Έτσι, η συγκέντρωση των NO<sub>x</sub>-N αυξήθηκε στην εκροή του SBR με αποτέλεσμα τη παρουσία δέκτη ηλεκτρονίων κατά την αναερόβια φάση λειτουργίας. Η παρουσία των νιτρικών/νιτρωδών έδωσε πλεονέκτημα στους απονιτροποιητές έναντι των PAOs να καταναλώσουν τη διαθέσιμη οργανική τροφή, χρησιμοποιώντας τα NOx-N ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Επίσης, η αύξηση του ρυθμού νιτροποίησης επέφερε τη ραγδαία μείωση του pH (5,2-7) κατά την αερόβια φάση για συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου 80 mg NH4+-N/L στην είσοδο του SBR. Συνεπώς, η μείωση του pH κάτω του 7,5 έπαιξε καθοριστικό ρόλο στην αναχαίτιση των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Αντιθέτως, τόσο ο ρυθμός της νιτροποίησης όσο και η τιμή του pH δεν μεταβλήθηκαν με την αύξηση της εισερχόμενης συγκέντρωσης αμμωνίας στον SBBR. Επίσης, η απόδοση της EBPR αυξήθηκε με την αύξηση του αμμωνιακού

αζώτου από 20 σε 80 mg NH₄<sup>+</sup>−N/L. Η σταθερή λειτουργία του SBBR οφείλεται στη δομή και λειτουργία των βιοφορέων οι οποίοι είναι ικανοί να πραγματοποιούν ταυτόχρονη νιτροποίηση-απονιτροποίηση, απομακρύνοντας πλήρως τα NO<sub>x</sub>-N κατά την αερόβια/ανοξική φάση λειτουργίας.

Οι Freitas et al., 2009 διερεύνησαν την επίδραση των υψηλών εισερχόμενων φορτίων του οργανικού άνθρακα, αζώτου και φωσφόρου στο μεταβολισμό των PAOs σε ένα A/O βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με σύντομους κύκλους λειτουργίας. Οι υψηλές συγκεντρώσεις οξικού οξέος στην αρχή της αναερόβιας φάσης λειτουργίας προκάλεσαν την εισροή του οργανικού άνθρακα στην αερόβια φάση λειτουργίας και κατ επέκταση την προσωρινή συσσώρευση του COD στην εκροή του συστήματος επεξεργασίας. Τα τυπικά ετεροτροφικά βακτήρια επικράτησαν έναντι των PAOs και των νιτροποιητών, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων οργανικής τροφής υπό αερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Συνεπώς, τα PAOs σταδιακά απομακρύνθηκαν από το σύστημα, καθώς δεν είχαν τη δυνατότητα να αναπληρώσουν τις ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες, έτσι ώστε να προσλάβουν την οργανική τροφή κατά την αναερόβια φάση του επόμενου κύκλου λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Επίσης, οι υψηλοί λόγοι C/P και οι υψηλές θερμοκρασίες (T=30°C) ευνόησαν την ανάπτυξη των GAOs υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Όσον αφορά τις υπόλοιπες βιολογικές διεργασίες, η διαδικασία της νιτροποίησης επηρεάστηκε σε μικρότερο βαθμό από την EBPR σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης οργανικής τροφής. Ωστόσο, τα ΝΟΒ ανέκαμψαν με πολύ πιο αργό ρυθμό από τα ΑΟΒ, λόγω της έλλειψης υποστρώματος (νιτρώδη) και της υψηλής θερμοκρασίας. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα ΝΟΒ αναπτύσσονται με μικρότερο ρυθμό από τα AOB σε θερμοκρασία ίση με 30°C με αποτέλεσμα την επίτευξη της νιτρωδοποίησης κατά την αερόβια φάση λειτουργίας. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη, η απότομη αύξηση της συγκέντρωσης φωσφόρου στην αρχή της αναερόβιας φάσης λειτουργίας ευνόησε τόσο τον αναερόβιο όσο και τον αερόβιο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων, αυξάνοντας το ποσοστό της μικροβιακής δραστηριότητας των PAOs στη βιομάζα του βιοαντιδραστήρα. Ωστόσο, ο εγκλιματισμός της βιομάζας (1 εβδομάδα) ήταν απαραίτητος για την πλήρη αποκατάσταση της απόδοσης της EBPR έπειτα από την αλλαγή αυτή. Η

βιολογική απομάκρυνση του οργανικού άνθρακα και του αμμωνιακού αζώτου δεν επηρεάστηκαν από τις υψηλές συγκεντρώσεις φωσφόρου. Η απότομη αύξηση της συγκέντρωσης της αμμωνίας οδήγησε στην αστοχία της βιολογικής απομάκρυνσης του φωσφόρου, εξαιτίας της παραγωγής του FNA και της FA. Τα PAOs αναχαιτίστηκαν σε αρκετά χαμηλή συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος (0,05x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L). Γενικότερα, η δυνατότητα των μικροβιακών πληθυσμών να ανακάμπτουν έπειτα από την απότομη αύξηση των συγκεντρώσεων των θρεπτικών εξαρτάται από τα λειτουργικά χαρακτηριστικά του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Η μείωση του συνολικού υδραυλικού χρόνου παραμονής οδήγησε στη γρήγορη αποκατάσταση των μεταβολικών διεργασιών των νιτροποιητικών και πολυφωσφορικών βακτηρίων. Συγκεκριμένα, τα PAOs ανέκαμψαν εντός 20-30 ημερών (2-3 SRT), ακόμη και σε συνθήκες ευνοϊκές για την ανάπτυξη των GAOs (T=30°C, υψηλός λόγος C/P). Η διαδικασία της νιτροποίησης και της βιολογικής απομάκρυνσης οργανικού άνθρακα αποκαταστάθηκαν εντός 1-2 ημερών, έπειτα από τη μεταβολή των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στην είσοδο του βιοαντιδραστήρα.

Οι Wang et al., 2020 μελέτησαν την επίδραση της ταυτόχρονης μεταβολής των συγκεντρώσεων αζώτου, φωσφόρου και οργανικού άνθρακα στο μεταβολισμό των PAOs, χρησιμοποιώντας A/O/A βιοαντιδραστήρα τύπου SBR. Η απότομη αύξηση των συγκεντρώσεων των θρεπτικών υποβάθμισε την απόδοση της βιολογικής απομάκρυνσης του φωσφόρου. Η αύξηση της συγκέντρωσης φωσφόρου από 10 σε 20 mg P/L οδήγησε στην αύξηση της εκλυόμενης ποσότητας φωσφόρου υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Ωστόσο, η σύνθεση των PHAs από τα PAOs/DPAOs αναχαιτίστηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του εισερχόμενου φωσφόρου από 20 σε 40 mg P/L με αποτέλεσμα την αναχαίτιση της αερόβιας δέσμευσης φωσφόρου. Επίσης, το μέσο ποσοστό απομάκρυνσης φωσφόρου μειώθηκε από 90,38 ± 3,63% σε 84,52 ± 4.91% με την αύξηση των συγκεντρώσεων της οργανικής τροφής και του αμμωνιακού αζώτου από 400 σε 800 mg/L και από 40 σε 80 mg/L, αντίστοιχα. Τέλος, ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs παρουσιάζει πτώση τις πρώτες μέρες της ταυτόχρονης αύξησης των

συγκεντρώσεων των θρεπτικών, λόγω της ανάγκης της βιομάζας για εγκλιματισμό στην αλλαγή των φυσικοχημικών παραμέτρων του αντιδραστήρα.

#### **2.4.5.2** Αλατότητα

Η χρήση του θαλασσινού νερού στις αστικές δραστηριότητες και η διάθεση των βιομηχανικών λυμάτων, τα οποία μπορεί να περιέχουν κάποιο ποσοστό αλατότητας, στο αποχετευτικό σύστημα, οδηγεί στην αύξηση των συγκεντρώσεων αυτής στην κύρια γραμμή επεξεργασίας των ΕΕΛ. Η αλατότητα επηρεάζει άμεσα το μεταβολισμό των διαφόρων μικροοργανισμών που επιτελούν τις βιολογικές διεργασίες και κατ επέκταση τη συγκέντρωση των θρεπτικών στην εκροή των ΕΕΛ.

Οι Welles et al., 2015 μελέτησαν την επίδραση της αλατότητας στον αερόβιο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων με την προσθήκη διαφόρων συγκεντρώσεων χλωριούχου νατρίου κατά τη διεξαγωγή πειραμάτων τύπου batch. Τα PAOs καλλιεργήθηκαν σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με την εναλλαγή αναερόβιων, αερόβιων/ανοξικών συνθηκών λειτουργίας. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας αναχαιτίζουν τις αερόβιες μεταβολικές διεργασίες των PAOs. Οι ενεργειακές απαιτήσεις των πολυφωσφορικών βακτηρίων για τη συντήρηση του κυττάρου αυξήθηκαν σε συγκέντρωση αλατότητας μεγαλύτερη από 2%. Η πρόσληψη του αμμωνιακού αζώτου, των ορθοφωσφορικών, του οξυγόνου κατά τον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs αναχαιτίστηκαν σε ποσοστό 63%, 45%, 25%, αντίστοιχα, με την αύξηση της συγκέντρωσης της αλατότητας από 0 σε 0,18%. Έτσι, η ικανότητα των PAOs να προσλαμβάνουν το αμμωνιακό άζωτο, η οποία συνδέεται άμεσα με την ανάπτυξη της βιομάζας, αναχαιτίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό από τη διαδικασία αναπλήρωσης των πολυφωσφορικών αλυσίδων και του γλυκογόνου. Η συγκεκριμένη μελέτη αναφέρει ότι ο αναερόβιος και αερόβιος μεταβολισμός των PAOs αναχαιτίζονται σε ποσοστό 50% σε συγκέντρωση αλατότητας ίση με 0,6% και 0,2%, αντίστοιχα.

## 3 Μέθοδοι πειραματικών μετρήσεων

#### 3.1 Γενικά

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας αναπτύχθηκε καλλιέργεια πολυφωσφορικών βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρα διαλείποντος έργου (SBR) εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας με νιτρωδοποίηση-απονιτρωδοποίηση και ταυτόχρονη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Το ανάμεικτο υγρό πλήρωσης του αντιδραστήρα προερχόταν από την ανακυκλοφορία στο βιολογικό καθαρισμό της ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Αρχικά, πειράματα batch πραγματοποιήθηκαν στη βιομάζα του SBR για τον έλεγχο του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης του φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια (PAOs) υπό την απουσία αναχαιτιστικών ουσιών. Αφού τα PAOs πέτυχαν τόσο αερόβια όσο και ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου κατά την ταυτόχρονη νιτρωδοποίηση και τη μετέπειτα απονιτρωδοποίηση, η βιομάζα του αντιδραστήρα SBR υποβλήθηκε σε σειρές πειραμάτων batch. Σκοπός των πειραμάτων αυτών ήταν η διερεύνηση της ξεχωριστής και της συνδυασμένης επίδρασης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA) και της ελεύθερης αμμωνίας (FA) στον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Επίσης, η παρακολούθηση του συστήματος γινόταν την ίδια περίοδο με τις σειρές των πειραμάτων batch για να αξιολογείται η απόδοση της EBPR σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου στην είσοδο του SBR κατά τη μακροχρόνια λειτουργία του.

Η εγκατάσταση του πιλοτικού αντιδραστήρα SBR και οι εργαστηριακές αναλύσεις κατά την παρακολούθηση του συστήματος και την εκτέλεσης των πειραμάτων batch πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας της σχολής Πολιτικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Οι διάφορες μετρήσεις των φυσικοχημικών και περιβαλλοντικών παραμέτρων του ανάμεικτου υγρού έγιναν σύμφωνα με τις Standard Methods (APHA, 2005). Το πειραματικό πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων παραμέτρων για τους σκοπούς της παρούσας διπλωματικής εργασίας, περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω.

## 3.2 Μέτρηση ολικών αιωρούμενων (TSS) και πτητικών στερεών (VSS)

Η μέτρηση των συγκεντρώσεων των ολικών αιωρούμενων και πτητικών στερεών τόσο στον αντιδραστήρα SBR όσο και στους αντιδραστήρες των batch πειραμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω των διαδικασιών της διήθησης συγκεκριμένου όγκου ανάμεικτου υγρού, εξάτμισης και ξήρανσης. Τα στρωματικά φίλτρα GF/C της Whatman με μέγεθος πόρων 1,2 μm χρησιμοποιήθηκαν για τη διήθηση του ανάμεικτου υγρού. Αρχικά, τα φίλτρα αυτά τοποθετούνται στο φούρνο των 550°C για 20 λεπτά, έτσι ώστε να απομακρυνθεί η υγρασία. Στη συνέχεια, μεταφέρονται στον αφυγραντήρα μέχρι να κρυώσουν και ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας. Η ένδειξη αυτή καταγράφεται και έπειτα το φίλτρο τοποθετείται στη συσκευή διήθησης. Η καλή ανάδευση του δείγματος είναι αναγκαία για την ομογενοποίηση των στερεών στο ανάμεικτο υγρό καθώς διαπερνά τους πόρους του φίλτρου κατά τη διαδικασία της διήθησης. Ο όγκος του ανάμεικτου υγρού που διηθήθηκε ήταν 5 mL. Αμέσως μετά τη διήθηση, ακολουθεί η είσοδος του προξηραμένου φίλτρου στο φούρνο των 103-105°C για 1 ώρα, έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της ξήρανσης. Αφού περάσει η μία ώρα στο πυριαντήριο θερμοκρασίας 103-105°C, το φίλτρο μεταφέρεται στον ξυραντήρα για 10 λεπτά. Το φίλτρο μπορεί να μείνει στο φούρνο των 103-105°C μέχρι ένα 24ωρο. Έπειτα, ζυγίζεται και η ένδειξη καταγράφεται.



Εικόνα 3.1 Ζυγός ακριβείας



Εικόνα 3.2 αφυγραντήρας



Εικόνα 3.3 Φούρνος στους 103-105 °C

Ο προσδιορισμός των ολικών αιωρούμενων στερεών σε mg/L γίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$TSS = \frac{(M2 - M1)}{V} * 10^6$$

όπου:

M2: Μάζα φίλτρου μετά την ξήρανση στους 103-105°C (g)

M1: Μάζα καθαρού προξηραμένου φίλτρου (g)

V: όγκος δείγματος που διηθήθηκε (mL)

Τέλος, το φίλτρο υπόκειται στη διαδικασία της καύσης για τον προσδιορισμό των πτητικών αιωρούμενων στερεών. Έτσι, αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της ξήρανσης και καταγραφεί το βάρος του φίλτρου, τοποθετείται στο φούρνο των 550°C για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, μεταφέρεται στον ξηραντήρα μέχρι να κρυώσει. Αφού κρυώσει, ζυγίζεται και καταγράφεται το βάρος του.



Εικόνα 3.4 Φούρνος στους 550 °C.

Ο προσδιορισμός των πτητικών αιωρούμενων στερεών σε mg/L γίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$VSS = \frac{(M2 - M3)}{V} * 10^6$$

όπου:

M2: Μάζα καθαρού μετά την ξήρανση στους 103-105°C (g)

M3: Μάζα φίλτρου μετά την καύση στους 550°C (g)

V: όγκος δείγματος που διηθήθηκε (mL)

### 3.3 Μέτρηση του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)

Το COD αποτελεί το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο για την οξείδωση των οργανικών και ανόργανων ενώσεων που περιέχονται στο ανάμεικτο υγρό. Η

μέτρηση του COD υποδηλώνει το βιοαποικοδομήσιμο ή μη οργανικό φορτίο των εισερχόμενων λυμάτων σε μία ΕΕΛ. Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, προσδιορίστηκε το διαλυτό COD κυρίως στην αρχή και στο τέλος της αναερόβιας φάσης λειτουργίας. Η κατανάλωση του διαλυτού COD ήταν αντιπροσωπευτική της ικανότητας των πολυφωσφορικών βακτηρίων να προσλαμβάνουν την οργανική τροφή υπό αναερόβιες συνθήκες, έτσι ώστε να σχηματίζουν τα απαραίτητα PHAs στο εσωτερικό του κυττάρου τους για την κάλυψη των αναγκών τους σε άνθρακα και ενέργεια κατά τον αερόβιο μεταβολισμό τους.

προσδιορισμός του COD πραγματοποιήθηκε μέσω των έτοιμων 0 αντιδραστηρίων με εύρος τιμών 15-150 mg/L και 150-1000 mg/L και της συσκευής χώνευσης της εταιρείας ΗΑCΗ. Τα έτοιμα αντιδραστήρια περιέχουν διάλυμα ισχυρού οξέος και γνωστή ποσότητα διχρωμικού καλίου (K2CR2O7), τα οποία αναμειγνύονται με 2 mL κατάλληλα αραιωμένου δείγματος. Έτσι, συγκεκριμένος όγκος ανάμικτου υγρού (το πολύ 2 mL) διηθείται μέσω μεμβράνης 0,45 μm. Έπειτα, ακολουθεί η αραίωση του διηθημένου δείγματος με απιονισμένο νερό, έτσι ώστε η απορρόφηση να μη ξεπερνά το καθορισμένο εύρος τιμών (15-150 mg/L και 150-1000 mg/L) που προσφέρει η συγκεκριμένη μέθοδος ανάλυσης. Στη συνέχεια, τα φιαλίδια τοποθετούνται στη συσκευή χώνευσης για 2 ώρες σε θερμοκρασία ίση με 150±2°C. Κατά τη διαδικασία χώνευσης του δείγματος, το διχρωμικό ιόν οξειδώνει την ύλη που περιέχεται στο δείγμα με αποτέλεσμα το εξασθενές χρώμιο να μετατρέπεται σε τρισθενές. Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της χώνευσης και τα φιαλίδια αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, τοποθετούνται στο φασματοφωτόμετρο. Τέλος, η συγκέντρωση του διαλυτού COD προσδιορίζεται με τη χρήση προγράμματος barcode και η μέτρηση αυτή καταγράφεται.

Η συγκέντρωση (mg/L) του διαλυτού COD με τη χρήση barcode υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο:

$$COD\delta/\tau o = CODbarcode * αραίωση$$

#### 3.4 Μέτρηση ορθοφωσφορικών

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ορθοφωσφορικών πραγματοποιείται σύμφωνα με τη μέθοδο του ασκορβικού οξέος. Το μολυβδαινικό αμμώνιο ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MoO<sub>24</sub>) και το τρυγικό κάλιο-αντιμόνιο (K(Sb)C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>) αντιδρούν με τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης και παράγουν το φωσφομολυβδαινικό οξύ υπό όξινες συνθήκες σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:

 $PO_4^{-3} + 12(NH_4)_2MOO_4 + 24H^+ \longrightarrow (NH_4)_3PO_412MOO_3 + 21NH_4^+ + 12H_2O$ 

Με τη προσθήκη του ασκορβικού οξέος, το μολυβδαίνιο που περιέχεται στο φωσφομολυβδαινικό οξύ ανάγεται σε ελεύθερο μολυβδαίνιο που δίνει μία έντονη μπλε απόχρωση στο διάλυμα. Όσο πιο έντονη είναι η απόχρωση αυτή τόσο η συγκέντρωση των ορθοφωσφορικών στο διάλυμα αυξάνεται. Η συγκέντρωση του φωσφόρου μετράται εντός συγκεκριμένου εύρους τιμών μεταξύ 0,1 και 1 mg P/L. Ο προσδιορισμός του ολικού φωσφόρου γίνεται φασματογραφικά σε μήκος κύματος 890 nm.

Αρχικά, το ανάμεικτο υγρό διηθείται μέσω μεμβράνης 0,45 μm και έπειτα το δείγμα αραιώνεται με απιονισμένο νερό σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL, έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση να βρίσκεται εντός του εύρους τιμών 0,1-1 mg P/L. Το αραιωμένο δείγμα μεταγγίζεται σε κωνική φιάλη, όπου 8 mL ανάμικτα αντιδραστήρια προστίθενται.

Η αντίδραση αυτή διαρκεί 10 λεπτά, μέχρι ο χρωματισμός του δείγματος να ολοκληρωθεί. Έπειτα, η συγκέντρωση των ορθοφωσφορικών προσδιορίζεται μέσω της απορροφητικότητας του δείγματος σε μήκος κύματος 890 nm στο φασματοφωτόμετρο.



Εικόνα 3.5 Μέτρηση ορθοφωσφορικών



Εικόνα 3.6 Φασματοφωτόμετρο

## 3.5 Μέτρηση αμμωνιακού αζώτου (NH<sub>4</sub>-N)

Η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Nessler, αφού είχε προηγηθεί η διαδικασία της απόσταξης για την πλήρη απομάκρυνση του NH<sub>4</sub>-N από το δείγμα. Η απόσταξη της αμμωνίας πραγματοποιείται με τη διοχέτευση υδρατμών στο δείγμα. Η απόσταξη γίνεται σε αλκαλικές συνθήκες ώστε η πλειονότητα του αμμωνιακού αζώτου να βρίσκεται με τη μορφή αμμωνίας που παρουσιάζει μικρή διαλυτότητα στο νερό. Υπό συνθήκες βρασμού του δείγματος, η αμμωνία ελευθερώνεται σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση: Θερμότητα + NH4<sup>+</sup>----> NH<sub>3</sub> (g) 个 + H<sup>+</sup>

Σύμφωνα με την ανωτέρω αντίδραση η παραγωγή αέριας αμμωνίας έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή οξέος με τη μορφή ιόντων υδρογόνου και συνεπώς τη μείωση του pH και πιθανόν τον τερματισμό της παραπάνω αντίδρασης. Έτσι, διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH 6N) προστίθεται στο δείγμα για τη διατήρηση του pH περίπου στο 9,5. Οι υδρατμοί και η αέρια αμμωνία συλλέγονται σε διάλυμα βορικού οξέος που αντιδρά με την αμμωνία με αποτέλεσμα να παράγεται αμμώνιο, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:

 $NH_3+H_3BO_3 - > NH_4^++H_2BO_3^-$ 

Η συσκευή απόσταξης που χρησιμοποιήθηκε κατά την εργαστηριακή ανάλυση στην παρούσα διπλωματική εργασία ήταν τύπου BUCHI 314. Αρχικά, το ανάμεικτο υγρό διηθείται μέσω μεμβράνης 0,45 μm και έπειτα προστίθεται συγκεκριμένος όγκος δείγματος (5-50 mL) σε ειδική φιάλη της συσκευής απόσταξης, έτσι ώστε η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου να είναι εντός του εύρους τιμών 0,5-5 mg/L. Για τη διατήρηση αλκαλικού περιβάλλοντος, προστίθενται 2-3 σταγόνες καυστικού νατρίου (NaOH 6N). Στη συνέχεια, οι υδρατμοί διοχετεύονται στο δείγμα για τη δημιουργία της αέριας αμμωνίας σε συνθήκες βρασμού. Οι υδρατμοί και η αέρια αμμωνία μέσω της συσκευής απόσταξης συλλέγονται σε κωνική φιάλη, όπου έχουν πρστεθεί 10 mL βορικού οξέος για τη δημιουργία του αμμωνιακού αζώτου. Το διάλυμα του βορικού οξέος υφίσταται την κατάλληλη αραίωση σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL και έπειτα προστείθενται 2 mL αντιδραστηρίου Nessler. Το ιωδιούχο κάλιο και ο ιωδιούχος ψευδάργυρος (αντιδραστήριο nessler) αντιδρούν με το αμμωνιακό άζωτο που περιέχεται στο απόσταγμα και παράγουν ένα κολλοειδές διάλυμα χρώματος καφεκίτρινου σε αλκαλικό περιβάλλον, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:

2 K<sub>2</sub>HgI<sub>4</sub> + NH<sub>3</sub> + 3 KOH -----> Hg<sub>2</sub>IONH<sub>2</sub> + 7 KI + 2 H<sub>2</sub>O

#### καφε-κίτρινο

Η αντίδραση αυτή ολοκληρώνεται εντός 10 λεπτών και η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου μετράται σε μήκος κύματος 425 nm στο φασματοφωτόμετρο.



Εικόνα 3.7 BUCHI 314



Εικόνα 3.8 μέτρηση αμμωνιακού αζώτου με χρήση αντιδραστηρίου nessler

# 3.6 Μέτρηση νιτρώδους (NO<sub>2</sub>-N) και νιτρικού αζώτου (NO<sub>3</sub>-N)

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, η μέτρηση της συγκέντρωσης των νιτρωδών και νιτρικών ήταν απαραίτητη για την αξιολόγηση της απόδοσης της νιτρωδοποίησης και της μετέπειτα απονιτρωδοποίησης κατά την παρακολούθηση της λειτουργίας του συστήματος. Επίσης, η συγκέντρωση των νιτρωδών μετριόταν για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του FNA η οποία αναχαιτίζει τον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs κατά τη διάρκεια των πειραμάτων batch.

Η μέτρηση των νιτρωδών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση αντιδραστηρίων Nitriver 3 της εταιρείας HACH. Αρχικά, το ανάμεικτο υγρό διηθείται μέσω μεμβράνης 0,45 μm για τον προσδιορισμό των νιτρωδών και νιτρικών. Σύμφωνα με την φασματοφωτομετρική μέθοδο ανάλυσης, το ανάμεικτο υγρό διηθείται και έπειτα το αντιδραστήριο Nitriver 3 προστίθεται σε 10 mL κατάλληλα αραιωμένου δείγματος. Η αντίδραση πραγματοποιείται εντός 20 λεπτών και το δείγμα αποκτά ένα ροζ χρώμα. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των νιτρωδών τόσο η απόχρωση γίνεται εντονότερη. Αφού περάσουν τα 20 λεπτά, το δείγμα μετριέται στο φασματοφωτόμετρο.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νιτρικών, χρησιμοποιήθηκαν έτοιμα αντιδραστήρια της εταιρείας HACH τύπου LANGE LCK 339. Το δείγμα υφίσταται την απαραίτητη αραίωση και ύστερα 1 mL δείγματος προστίθεται στο φιαλίδιο με το έτοιμο αντιδραστήριο. Επίσης, αντιδραστήριο όγκου 0,2 mL, το οποίο παρέχεται μαζί με τα φιαλίδια από την εταιρεία, προστίθεται για την πραγματοποίηση της αντίδρασης εντός 15 λεπτών. Αφού περάσουν τα 15 λεπτά, το φιαλίδιο μετράται στο φασματοφωτόμετρο με τη χρήση του προγράμματος barcode.

## 3.7 Μέτρηση pH, διαλυμένου οξυγόνου (DO), θερμοκρασίας (T)

Για τη μέτρηση του pH και της θερμοκρασίας χρησιμοποιήθηκε φορητό pHμετρο 3110 της εταιρείας WTW. Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου προσδιορίστηκε με τη χρήση φορητού οξυγονόμετρου oxi 330i της εταιρείας WTW.



Εικόνα 3.9 pH 3110 (HACH) και οxi 330i

## 4 Πειραματική διάταξη

#### 4.1 Γενικά

Η διάθεση των ανεπαρκώς επεξεργασμένων λυμάτων στο έδαφος και κατ επέκταση στα υδάτινα σώματα οδηγεί στην υποβάθμιση των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων, εξαιτίας της δημιουργίας του φαινομένου του ευτροφισμού. Ωστόσο, τα ολοένα και αυστηρότερα νομοθετικά μέτρα για τον περιορισμό των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στην εκροή των ΕΕΛ, στοχεύουν στο σχεδιασμό σύγχρονων βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας. Η βιολογική επεξεργασία των λυμάτων μειώνει το ενεργειακό, λειτουργικό κόστος και αυξάνει τα ποσοστά απομάκρυνσης του οργανικού άνθρακα, του αζώτου και του φωσφόρου σε μία ΕΕΛ (Bashar et al., 2018).

Οι Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Αστικών Λυμάτων αποτελούνται συνήθως από δύο γραμμές επεξεργασίας. Η κύρια γραμμή επεξεργασίας των εισερχόμενων λυμάτων περιλαμβάνει τη μονάδα προεπεξεργασίας, την πρωτοβάθμια, δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια επεξεργασία. Η δεύτερη γραμμή αποτελείται από τη μονάδα πάχυνσης και χώνευσης της πρωτοβάθμιας ιλύος, τη μονάδα πάχυνσης της βιολογικής ιλύος, τη μονάδα μεταπάχυνσης της πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας ιλύος και τέλος τη μονάδα αφυδάτωσης της μεταπαχυμένης ιλύος. Οι μονάδες της πάχυνσης και της αφυδάτωσης της ιλύος δημιουργούν το ρεύμα των στραγγιδίων το οποίο ανακυκλοφορείται στην είσοδο της ΕΕΛ. Η σύσταση των στραγγιδίων χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου και φωσφόρου με αποτέλεσμα το φορτίο των θρεπτικών να αυξάνεται κατά 10-30% στην κύρια γραμμή επεξεργασίας της εγκατάστασης. Η απότομη αύξηση των συγκεντρώσεων του οργανικού άνθρακα, του αζώτου και του φωσφόρου στην είσοδο των ΕΕΛ αναχαιτίζουν τις μεταβολικές διεργασίες των μικροοργανισμών με αποτέλεσμα τη συσσώρευση των θρεπτικών στην εκροή της ΕΕΛ. Συνεπώς, η ξεχωριστή επεξεργασία των στραγγιδίων πρέπει να προηγείται της ανακυκλοφορίας τους στην κύρια γραμμή επεξεργασίας των ΕΕΛ, έτσι ώστε η απόδοση των συστημάτων αυτών να διατηρείται όσο το δυνατόν σταθερή (Ανδρεαδάκης, 2015, Wang et al., 2020, Choi et al., 2019).

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου και του αζώτου από το ρεύμα των στραγγιδίων αφυδάτωσης αποτελεί μία οικονομική και περιβαλλοντικά βιώσιμη μέθοδο επεξεργασίας. Αντιθέτως, η χρήση χημικών κροκιδωτικών, όπως το αργίλιο (Al<sup>3+</sup>), ο σίδηρος (Fe<sup>3+</sup>) αυξάνουν το λειτουργικό, ενεργειακό κόστος και τη ποσότητα της παραγόμενης περίσσειας ιλύος κατά τη χημική κατακρήμνιση του φωσφόρου. Επίσης, η χημική κατακρήμνιση του φωσφόρου μειώνει τη συγκέντρωση των φωσφορικών στην περίσσεια ιλύ η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εδαφοβελτιωτικό (Bashar et al., 2018).

Η βιολογική απομάκρυνση των θρεπτικών (Ν, Ρ) πραγματοποιείται μέσω της νιτροποίησης-απονιτροποίησης και της παράλληλης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου στα σύγχρονα συστήματα ενεργού ιλύος. Ωστόσο, ο χαμηλός λόγος C/N των στραγγιδίων αφυδάτωσης υποβαθμίζει την απόδοση των βιολογικών διεργασιών, εξαιτίας της έλλειψης του οργανικού άνθρακα για την κάλυψη των μεταβολικών αναγκών των πολυφωσφορικών και των απονιτροποιητικών βακτηρίων υπό αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες, αντίστοιχα. Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης απαιτεί μικρότερη κατανάλωση πηγής άνθρακα και ενέργειας για αερισμό, καθώς πραγματοποιείται μόνο το πρώτο της νιτροποίησης (NH4<sup>+</sup>----->NO2<sup>-</sup>). Ωστόσο, η διαδικασία της στάδιο νιτρωδοποίησης μπορεί να προκαλέσει τη συσσώρευση των νιτρωδών στο τέλος της αερόβιας φάσης λειτουργίας. Η δημιουργία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας αποτελεί μία από τις κύριες αιτίες αστοχίας των συστημάτων με ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου μέσω νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου (Zheng et al., 2021, Wang et al., 2014).

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου πραγματοποιείται από τα πολυφωσφορικά βακτήρια τα οποία προσλαμβάνουν την οργανική τροφή υπό αναερόβιες συνθήκες λειτουργίας. Έτσι, τα PAOs αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των τυπικών ετεροτροφικών βακτηρίων τα οποία μπορούν να καταναλώσουν την πηγή άνθρακα μόνο υπό την παρουσία αποδέκτη ηλεκτρονίων.

Τα PAOs υδρολύουν τις ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες, εκλύοντας ορθοφωσφορικά στην υγρή φάση. Υπό αερόβιες συνθήκες, τα PAOs δεσμεύουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης, οξειδώνοντας τα αποθηκευμένα PHAs με αποδέκτη ηλεκτρονίων το οξυγόνο. Τα DPAOs έχουν την ικανότητα να απομακρύνουν φώσφορο υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας, μειώνοντας τη ζήτηση σε διαλυμένο οξυγόνο, εξωτερική πηγή άνθρακα και την παραγόμενη ποσότητα περίσσειας ιλύος. Ωστόσο, ο μεταβολισμός των PAOs/DPAOs αναχαιτίζεται από διάφορες φυσικοχημικές, λειτουργικές, περιβαλλοντικές παραμέτρους στα μονοβάθμια συστήματα ενεργού ιλύος με ταυτόχρονη απομάκρυνση θρεπτικών. Επίσης, η παρουσία των GAOs αποτελεί άλλη μία βασική αιτία αστοχίας της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Τα βακτήρια αυτά δε διαθέτουν ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες με αποτέλεσμα να καταναλώνουν την οργανική τροφή υπό αναερόβιες συνθήκες, χωρίς να συνεισφέρουν στην απομάκρυνση φωσφόρου κατά την αερόβια/ανοξική φάση (Oehmen et al., 2007, Li et al., 2020).

Η χρήση μονοβάθμιων συστημάτων επεξεργασίας διευκολύνει τη δημιουργία των κατάλληλων συνθηκών για την απομάκρυνση των θρεπτικών μέσω της νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και ταυτόχρονης βιολογικής της απομάκρυνσης φωσφόρου. Ωστόσο, όλες οι βιολογικές διεργασίες πραγματοποιούνται στον ίδιο χώρο με αποτέλεσμα τα πολυφωσφορικά βακτήρια να εκτίθενται στις υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου και κατ επέκταση της FA και του FNA τα οποία είναι παράγωγα της νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης.

Η έκθεση των πολυφωσφορικών βακτηρίων στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών για μεγάλη χρονική διάρκεια αυξάνει την αντοχή τους στο FNA με αποτέλεσμα να μπορούν να ανακάμψουν πιο εύκολα έπειτα από την πιθανή αναχαίτισή τους (Pijuan et al., 2010). Επίσης, η συσσώρευση των νιτρωδών στο τέλος της αερόβιας φάσης μπορεί να ευνοήσει την ανάπτυξη των PAOs έναντι των GAOs υπό ανοξικές συνθήκες λειτουργίας (Zeng et al., 2016). Συνεπώς, η λεπτομερής διερεύνηση των διαφόρων παραμέτρων, οι οποίες επηρεάζουν το μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων, αποτελεί βασική προϋπόθεση για

το σχεδιασμό ενός μονοβάθμιου συστήματος επεξεργασίας με ταυτόχρονη απομάκρυνση θρεπτικών.

Οι βιοαντιδραστήρες τύπου SBR προσφέρουν ευελιξία στην αλλαγή των λειτουργικών παραμέτρων. Η ανάπτυξη των οξειδωτών της αμμωνίας και των πολυφωσφορικών βακτηρίων έναντι των ανταγωνιστών τους (NOB, GAOS, απονιτροποιητές), ευνοείται με την εναλλαγή των φάσεων λειτουργίας σε συνδυασμό με την εφαρμογή κύκλων μικρής διάρκειας, καθώς δεν επιτρέπουν την έκθεση των μικροοργανισμών στις αναχαιτιστικές συγκεντρώσεις της FA και του FNA για μεγάλο χρονικό διάστημα (Freitas et al., 2009, Chen et al., 2013).

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, χρησιμοποιήθηκε βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας τύπου SBR για τη διερεύνηση της ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Ο πιλοτικός SBR εργαστηριακής κλίμακας εγκαταστάθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του ΕΜΠ και λειτούργησε τη χρονική περίοδο Σεπτέμβριος-Απρίλιος 2020-2021. Κατά το στάδιο εκκίνησης του αντιδραστήρα προστέθηκε ανάμεικτο υγρό από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Ο αντιδραστήρας τύπου SBR πέτυχε ταυτόχρονη απομάκρυνση θρεπτικών μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, έπειτα από μία περίοδο εγκλιματισμού της βιομάζας στις λειτουργικές συνθήκες του συστήματος. Η βιομάζα του αντιδραστήρα υποβλήθηκε σε σειρές πειραμάτων τύπου batch για τη διερεύνηση της συνδυασμένης επίδρασης της FA και του FNA στον αερόβιο ρυθμό πρόσληψης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια.

Στις επόμενες ενότητες ακολουθεί η αναλυτική περιγραφή του σχεδιασμού, της γενικής λειτουργίας του αντιδραστήρα SBR. Επίσης, περιγράφεται η πειραματική διάταξη των διαφόρων πειραμάτων batch και της παρακολούθησης της λειτουργίας του συστήματος.

#### 4.2 Περιγραφή του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR

Η χρήση εργαστηριακού βιοαντιδραστήρα SBR για την ανάπτυξη καλλιέργειας πολυφωσφορικών βακτηρίων στόχευε στη διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά την ταυτόχρονη απομάκρυνση υψηλών συγκεντρώσεων αμμωνιακού αζώτου μέσω νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης. Επίσης, η βιομάζα του αντιδραστήρα υποβλήθηκε σε πειράματα batch για τη διερεύνηση της συνδυασμένης επίδρασης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας στον αερόβιο ρυθμό δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs. Έτσι, η επιλογή των λειτουργικών παράμετρων του SBR ώστε να επιτευχθεί η διαδικασία της νιτρωδοποίησηςέγινε, έτσι απονιτρωδοποίησης και της EBPR. Ο αντιδραστήρας αποτελούταν από σύντομους κύκλους λειτουργίας κατά τη διάρκεια των οποίων εναλλάσσονταν αναερόβιες, αερόβιες, ανοξικές συνθήκες, έτσι ώστε να δωθεί ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs έναντι των υπόλοιπων ετεροτροφικών μικροοργανισμών, όπως τα GAOs και τα τυπικά απονιτροποιητικά βακτήρια (Freitas et al., 2009).

Ο SBR που επιλέχθηκε ήταν ορθογωνικής διατομής με συνολικό όγκο 14 λίτρων και κατασκευασμένος από Plexiglass. Ο ωφέλιμος όγκος του αντιδραστήρα ήταν 10 λίτρα. Το καπάκι διέθετε μία οπή την οποία διαπερνούσε ο άξονας της μηχανικής ανάδευσης, έτσι ώστε να επιτευχθούν συνθήκες πλήρους μίξης στο ανάμεικτο υγρό. Η αφαίρεση της περίσσειας ιλύος και της εκροής πραγματοποιούνταν χειροκίνητα μία φορά την ημέρα μέσω βανών οι οποίες είχαν τοποθετηθεί περιμετρικά του SBR. Η παροχή του οξυγόνου γινόταν με ελαφρόπετρα η οποία τοποθετούταν στον πυθμένα του SBR και ήταν συνδεδεμένη μέσω πλαστικών καλωδίων σε μία αεραντλία. Το διάλυμα της τροφής διοχετευόταν στο ανάμεικτο υγρό του συστήματος με συγκεκριμένη παροχή μέσω ενός πλαστικού σωλήνα ο οποίος ήταν συνδεδεμένος σε μία αντλία. Η έναρξη και η διακοπή του αερισμού και της τροφοδοσίας γίνονταν με τη χρήση χρονοδιακόπτων. Επίσης, η μηχανική ανάδευση λειτουργούσε με χρονοδιακόπτη, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η φάση καθίζησης στο τέλος των ημερήσιων κύκλων λειτουργίας του συστήματος.



Εικόνα 4.1 Εργαστηριακός αντιδραστήρας SBR

Κατά το στάδιο εκκίνησης, η ενεργός ιλύς που συλλέχθηκε από την καθαρισμό EΕΛ ανακυκλοφορία στο βιολογικό της της Ψυττάλειας, χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη της βιομάζας των νιτρωδοποιητικών και πολυφωσφορικών βακτηρίων στον εργαστηριακό αντιδραστήρα SBR. Αρχικά, 5 λίτρα ανάμικτου υγρού, το οποίο προήλθε από την ανακυκλοφορία της δεξαμενής τελικής καθίζησης στο βιολογικό καθαρισμό της ΕΕΛ της Ψυττάλειας, αναμειγνύεται με 4 λίτρα νερού βρύσης και 1 λίτρο επεξεργασμένων λυμάτων από την πρωτοβάθμια δεξαμενή καθίζησης της ΕΕΛ της Ψυττάλειας, ώστε ο ωφέλιμος όγκος του αντιδραστήρα να είναι 10 λίτρα. Τα λύματα από την πρωτοβάθμια δεξαμενή καθίζησης περιείχαν τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία και θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη της βιομάζας.

Ο αντιδραστήρας επεξεργάστηκε απόβλητα υψηλής συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου, καθώς τροφοδοτήθηκε με στραγγίδια αφυδάτωσης τα οποία προέρχονταν από τη γραμμή επεξεργασίας ιλύος της ΕΕΛ της Ψυττάλειας. Έτσι, το διάλυμα της τροφής αποτελούταν από στραγγίδια αφυδάτωσης τα οποία αραιώνονταν κατάλληλα με νερό βρύσης, ανάλογα με τη φόρτιση του αμμωνιακού αζώτου που θέλαμε να πετύχουμε στην είσοδο του SBR. Η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος χλωριούχου αμμωνίου γινόταν για την επίτευξη του επιθυμητού εισερχόμενου φορτίου αμμωνιακού αζώτου στον SBR, όταν δεν επαρκούσε η συγκέντρωση αζώτου που περιείχαν τα στραγγίδια αφυδάτωσης. Οι αλλαγές που έγιναν στη σύσταση της τροφοδοσίας κατά τη διάρκεια των 2 περιόδων λειτουργίας του SBR θα περιγραφούν αναλυτικά στο επόμενο κεφάλαιο. Επίσης, κατάλληλη ποσότητα εξωτερικής πηγής άνθρακα εισερχόταν στο διάλυμα της τροφής για την κάλυψη των μεταβολικών αναγκών των PAOs και των απονιτροποιητών υπό αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες, αντίστοιχα. Το διάλυμα της τροφής ήταν συνολικού όγκου 1 L και παρασκευαζόταν καθημερινά σε πλαστικό ποτήρι ζέσεως χωρητικότητας 2 λίτρων. Η τροφοδοσία πραγματοποιούταν 8 φορές την ημέρα από 100 mL η κάθε δόση. Η απαραίτητη ποσότητα φωσφόρου εισερχόταν με τη χρήση ογκομετρικού κυλίνδρου απευθείας στο ανάμεικτο υγρό πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης λειτουργίας, έτσι ώστε να ευνοηθεί ο αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs. Η επιλογή του είδους της εξωτερικής πηγής άνθρακα και φωσφόρου θα αναλυθεί στην επόμενη υποενότητα.

Η παρακολούθηση του pH, του DO, της θερμοκρασίας γινόταν καθημερινά μέσω των φορητών οργάνων που αναφέρθηκαν στην ενότητα 3.7. Επίσης, η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του αντιδραστήρα SBR ελεγχόταν σε καθημερινή βάση, έτσι ώστε να αποφευχθεί η συσσώρευση της αμμωνίας στο ανάμεικτο υγρό και να διασφαλιστεί η ομαλή λειτουργία του συστήματος κατά τη σταδιακή αύξηση της εισερχόμενης αμμωνιακής φόρτισης.

#### 4.2.1 Περιγραφή της γενικής λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR

Η λειτουργία του αντιδραστήρα SBR ξεκίνησε στις 16 Σεπτεμβρίου 2020 και ολοκληρώθηκε στις 25 Απριλίου 2021. Το σύστημα χρειάστηκε 40 μέρες για να αποκτήσει σταθερές συνθήκες λειτουργίας, δηλαδή τα PAOs να έχουν την ικανότητα να απομακρύνουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης υπό αερόβιες συνθήκες. Την ίδια χρονική περίοδο, το σύστημα παρουσίασε προβλήματα καθιζησιμότητας ιλύος. Έτσι, δεν ήταν δυνατή η αφαίρεση της εκροής στο τέλος της φάσης καθίζησης. Η αδυναμία των αιωρούμενων στερεών να διαχωριστούν και να καθιζάνουν μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες. Πρώτα απ'όλα, η ανεπαρκής απονιτροποίηση κατά την ανοξική φάση και επομένως η παρουσία των νιτρωδών στη φάση καθίζησης προκαλεί την άνοδο της ιλύος από τον πυθμένα στην επιφάνεια του αντιδραστήρα. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε στο συγκεκριμένο αντιδραστήρα, καθώς οι συγκεντρώσεις των νιτρωδών και νιτρικών ήταν μηδενικές στην εκροή του SBR. Επίσης, οι μικροοργανισμοί δεν έχουν την ανάγκη να σχηματίσουν τις απαραίτητες βιοκροκίδες σε συνθήκες υψηλής οργανικής φόρτισης. Η υψηλή συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου (>1,5 mg O<sub>2</sub>/L) και η χαμηλή συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στο τέλος της αερόβιας φάσης (<1 mg NH4-N/L) δεν επέτρεψαν την ανάπτυξη των νηματοειδών στον SBR (Martins et al., 2004). Έτσι, η πιθανή νηματοειδής διόγκωση της ιλύος μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη νηματοειδών μικροοργανισμών στην ενεργό ιλύ που συλλέχθηκε από το βιολογικό καθαρισμό της ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Η ικανότητα της ιλύος να καθιζάνει αποκαταστάθηκε την ίδια περίοδο με την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων στη βιομάζα του αντιδραστήρα. Επομένως, οι σειρές των πειραμάτων batch στη βιομάζα του SBR για τον προσδιορισμό του βαθμού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA και η in-situ παρακολούθηση του συστήματος άρχισαν μετά τις πρώτες 40 μέρες λειτουργίας του, στις 4/11/2020. Η πειραματική διάταξη της παρακολούθησης του συστήματος και των πειραμάτων batch θα περιγραφούν αναλυτικά στις επόμενες ενότητες.

Η λειτουργία του συστήματος χωρίστηκε σε δύο χρονικές περιόδους με βάση το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου. Η πρώτη περιλαμβάνει το διάστημα από 4 Νοεμβρίου 2020 έως 17 Ιανουαρίου 2021 με αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,1±0,02 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Από τις 17/01/2021 έως τις 24/01/2021, έγινε σταδιακή αύξηση του εισερχόμενου φορτίου αμμωνίας στα 0,15 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d και επομένως το σύστημα λειτουργούσε με την παραπάνω φόρτιση από τις 25 Ιανουαρίου 2021 έως το τέλος λειτουργίας του στις 25 Απριλίου 2021.

Η ημερήσια λειτουργία του αντιδραστήρα περιλάμβανε 4 κύκλους σύντομης διάρκειας οι οποίοι αποτελούνταν από 1 ώρα αναερόβια, 2 ώρες αερόβια και 2,5 ώρες ανοξική φάση. Ο σχεδιασμός αυτός του SBR στηρίχθηκε σε διάφορες πειραματικές μελέτες που έχουν γίνει με στόχο την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων σε συνθήκες υψηλού φορτίου αμμωνιακού αζώτου στην είσοδο των εργαστηριακών βιοαντιδραστήρων τύπου SBR.

Η Θέμελη Ε., 2019 διερεύνησε την επίδραση της διάρκειας του αναερόβιου χρόνου λειτουργίας στον αναερόβιο και αερόβιο μεταβολισμό των PAOs τα οποία καλλιεργήθηκαν με προπιονικό οξύ σε βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με νιτρωδοποίηση-απονιτρωδοποίηση και ταυτόχρονη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι η αλλαγη του αναερόβιου χρόνου από 1 σε 2 ώρες δεν οδήγησε στην αύξηση της εκλυόμενης και προσλαμβανόμενης ποσότητας φωσφόρου, αλλά στην περαιτέρω κατανάλωση του οργανικού άνθρακα υπό αναερόβιες συνθήκες. Επομένως, η αύξηση του αναερόβιου χρόνου πιθανώς ευνόησε την ανάπτυξη των GAOs. Επίσης, οι Zhao et al., 2019 μείωσαν τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης από 2 ώρες σε 1 ώρα, καθώς η συγκέντρωση των εκλυόμενων ορθοφωσφορικών στην υγρή φάση δεν αυξήθηκε μετά την πρώτη μισή ώρα. Η μείωση του αναερόβιου χρόνου λειτουργίας επιτάχυνε τον αερόβιο ρυθμό πρόσληψης φωσφόρου με αποτέλεσμα τα PAOs να προσλαμβάνουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης εντός των πρώτων 45 λεπτών.

Όσον αφορά τη διάρκεια της αερόβιας φάσης, ο μη παρατεταμένος αερισμός δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα AOB και στα PAOs έναντι των NOB και των GAOs, αντίστοιχα (Carvalheira et al., 2014c). Η εφαρμογή μικρού αερόβιου χρόνου παραμονής (2 ώρες) ευνοεί τον ανοξικό μεταβολισμό των PAOs, καθώς διαθέτουν επαρκή ποσότητα εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs για την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου (Chen et al., 2013). Επίσης, η υψηλή αμμωνιακή φόρτιση στην είσοδο του SBR οδηγεί στην επαρκή ποσότητα της FA η οποία σε συνδυασμό με το μικρό αερόβιο χρόνο λειτουργίας οδηγούν στην αναχαίτιση των NOB (Joss et al., 2009, Yuan et al., 2020).

Ο ανοξικός χρόνος λειτουργίας ρυθμίστηκε στις 2,5 ώρες με σκοπό την πλήρη απομάκρυνση των NO<sub>x</sub>-N και την αποφυγή της δευτερογενούς έκλυσης φωσφόρου, λόγω της έλλειψης αποδέκτη ηλεκτρονίων (Zhao et al., 2019, Κούκουρα Α., 2020). Το σύστημα παρέμενε σε ηρεμία 2 ώρες στο τέλος των ημερήσιων κύκλων λειτουργίας, έτσι ώστε να καθιζάνουν τα αιωρούμενα στερεά και να αφαιρεθεί το υπερκείμενο υγρό. Η περίσσεια ιλύς αφαιρούταν καθημερινά από τον SBR με

παροχή μεταξύ 0,5 και 0,8 L/d στο τέλος της φάσης καθίζησης και πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης σε συνθήκες πλήρους μίξης.

Η τροφοδοσία (100 mL) γινόταν το πρώτο λεπτό της αναερόβιας φάσης με σκοπό τα πολυφωσφορικά βακτήρια να επικρατήσουν έναντι των τυπικών ετεροτροφικών απονιτροποιητικών βακτηρίων, λόγω της απουσίας αποδέκτη ηλεκτρονίων. Ο ίδιος όγκος διαλύματος τροφής (100 mL) εισερχόταν στον SBR μετά τη 1,5 ώρα ανοξικής φάσης για 1 λεπτό. Με αυτόν τον τρόπο, τα πολυφωσφορικά βακτήρια αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των τυπικών ετεροτροφικών απονιτροποιητών, χρησιμοποιώντας τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs ως πηγή άνθρακα και ενέργειας με αποδέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρώδη. Έτσι, τα DPAOs πραγματοποιούν ταυτόχρονα ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου, μειώνοντας τη ζήτηση σε πηγή άνθρακα και αερισμό. Στη συνέχεια, οι απονιτροποιητές οξειδώνουν την οργανική τροφή για να απομακρύνουν γρήγορα τα NO<sub>x</sub>-N που απέμειναν από τα DPAOs, έτσι ώστε να μην υπάρχει αποδέκτης ηλεκτρονίων στην αναερόβια φάση του επόμενου κύκλου λειτουργίας του SBR.

Το pH διατηρούταν μεταξύ του 7,5 και του 8,2 καθ'όλη τη διάρκεια λειτουργίας του του συστήματος μέσω των μεταβολικών διεργασιών των νιτρωδοποιητικών, απονιτροποιητικών και πολυφωσφορικών βακτηρίων. Η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος θειικού οξέος (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ή καυστικού νατρίου (NaOH) πραγματοποιούταν για τη μείωση ή την αύξηση, αντίστοιχα, της τιμής του pH έπειτα από την απότομη μεταβολή της. Ο αναερόβιος και αερόβιος μεταβολισμός των PAOs ευνοείται για τιμές του pH μεγαλύτερες του 7,5 και μικρότερες του 8,5 (Filipe et al., 2001a, Oehmen et al., 2005c). Επίσης, ο ρυθμός της νιτρωδοποίησης μειώνεται για pH μικρότερο του 6,5 και μεγαλύτερο του 8,5. Η θερμοκρασία του ανάμικτου υγρού ήταν μεταξύ 16 και 22°C, έτσι ώστε να επικρατούν τα PAOs έναντι των GAOs (Lopez-Vazquez et al., 2009b, Lopez-Vazquez et al., 2009a).

Ο χρόνος παραμονής των στερεών (SRT ή θ<sub>c</sub>) που επιλέχθηκε ήταν 10 ημέρες με σκοπό την επίτευξη της νιτρωδοποίησης και της ταυτόχρονης ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων. Οι Yuan et al., 2020 ανέφεραν ότι τα AOB απαιτούν μεγαλύτερο χρόνο παραμονής των στερεών από τα PAOs για την κάλυψη των μεταβολικών τους αναγκών. Έτσι, η επιλογή του κατάλληλου SRT για την

επικράτηση των ΑΟΒ έναντι των ΝΟΒ δεν επηρεάζει την ανάπτυξη των βακτηρίων. πολυφωσφορικών Н διατήρηση του θ<sub>c</sub> στις 10 ημέρες πραγματοποιούταν μέσω της περίσσειας ιλύος, αφαιρώντας περίπου το 10% της βιομάζας, έτσι ώστε η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών (VSS) να ισούται τουλάχιστον με 2,5 g/L. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η περίσσεια ιλύς αφαιρούταν καθημερινά από το σύστημα πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης λειτουργίας. Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT ή θ) υπολογίστηκε με βάση τον τύπο  $\theta = \frac{v}{a}$  και ήταν ίσος με 2 ημέρες, αφαιρώντας 5 λίτρα υπερκείμενου υγρού και προσθέτοντας 4 λίτρα νερού και 1 λίτρο επεξεργασμένων λυμάτων από τη δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης της ΕΕΛ της Ψυττάλειας σε καθημερινή βάση στο τέλος της φάσης καθίζησης.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην ενότητα 2.3, τα συστήματα επεξεργασίας τα οποία τροφοδοτούνται με απόβλητα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου πετυχαίνουν σταθερή νιτρωδοποίηση μέσω της FA και του FNA. Η ποσότητα του αμμωνιακού αζώτου αυξήθηκε σταδιακά από 0,6 g σε 1,55 g στο διάλυμα της τροφής του SBR, έτσι ώστε η συγκέντρωση της FA να είναι επαρκής για την αναχαίτιση των NOB (>0,1 mg NH<sub>3</sub>/L) (Frison et al., 2014). Συνεπώς, η διαδικασία της νιτρωδοποίησης επιτεύχθηκε μέσω της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας σε συνδυασμό με τη μείωση του χρόνου αερισμού και του χρόνου παραμονής των στερεών (Joss et al., 2009, Yuan et al., 2020). Η έκθεση των πολυφωσφορικών βακτηρίων στην ολοένα και αυξανόμενη συγκέντρωση νιτρωδών στο τέλος της αερόβιας φάσης κατά τη μακροχρόνια λειτουργία του SBR οδήγησε στον εγκλιματισμό της βιομάζας (Pijuan et al., 2010).

Ο υπολογισμός της απαραίτητης συγκέντρωσης της οργανικής τροφής (COD) για την κάλυψη των μεταβολικών αναγκών των ετεροτροφικών βακτηρίων έγινε με βάση τον τύπο:

$$X_H = \frac{Y_H E_H F_o}{\frac{\theta}{\theta_c} \left(1 + b_H \theta_c\right)}$$

Αρχικά, 8 g COD εισέρχονταν στο διάλυμα της τροφής ανά ημέρα για την ανάπτυξη της βιομάζας. Το είδος της οργανικής τροφής επιλέχθηκε με βάση τον ανταγωνισμό
μεταξύ των PAOs-GAOs. Σύμφωνα με τη πειραματική εργασία της Θέμελη Ε., 2019, το προπιονικό οξύ κρίθηκε καταλληλότερο ως μοναδική πηγή άνθρακα για την επικράτηση των PAOs έναντι των GAOs κατά τη μακροχρόνια λειτουργία του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με νιτρωδοποίηση-απονιτρωδοποίηση και παράλληλη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Επίσης, η επιλογή του προπιονικού οξέος δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στο γένος Accumulibacter, το οποίο ανήκει στην ομάδα των PAOs, έναντι του γένους Competibacter το οποίο ανήκει στην ομάδα των GAOs (Oehmen et al., 2004, Oehmen et al., 2005b, Θέμελη Ε., 2019). Το γένος Defluviiccocus vanus, το οποίο ανήκει στην ομάδα των Alphaproteobacteria, ανταγωνίζεται αποτελεσματικότερα τα PAOs στην πρόσληψη του προπιονικού από του οξικού οξέος. Ωστόσο, τα Defluviiccocus vanus / δε συμμετέχουν καθόλου στη διαδικασία της απονιτροποίησης και τα Defluviiccocus vanus II διαθέτουν μόνο το ένζυμο αναγωγής των νιτρικών με αποτέλεσμα να μην μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων κατά την ανοξική φάση. Συνεπώς, τα PAO II επικρατούν έναντι των Defluviiccocus vanus II, καθώς μπορούν να χρησιμοποιήσουν μόνο τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, οξειδώνοντας τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs για την ταυτόχρονη ανοξική απομάκρυνση φωσφόρου και αζωτου (Wang et al., 2008, Oehmen et al., 2010). Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα PAOs αποκτούν μεγαλύτερο χρόνο παραμονής στο σύστημα από τα GAOs, καθώς οι μεταβολικές τους ενέργειες διαρκούν για περισσότερο χρονικό διάστημα στο σύστημα.

Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης σε συνδυασμό με την έλλειψη της οργανικής τροφής στην αρχή της ανοξικής φάσης έδωσαν προτεραιότητα στα PAOs έναντι των GAOs να απονιτρωδοποιήσουν. (Zeng et al., 2016, Θέμελη Ε.,2019). Η ανάπτυξη των PAOs II, τα οποία χρησιμοποιούν τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs με αποδέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρώδη, μείωσε τη ζήτηση σε οργανικό άνθρακα, αερισμό και την παραγόμενη ποσότητα ιλύος. Επομένως, η εφαρμογή των παραπάνω λειτουργικών παραμέτρων ευνόησαν την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων στον αντιδραστήρα SBR ο οποίος επεξεργαζόταν απόβλητα υψηλού περιεχομένου σε αμμωνιακό άζωτο μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Η προσθήκη του απαραίτητου όγκου διαλύματος φωσφορικού καλίου (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) γινόταν κατευθείαν στο ανάμεικτο υγρό με τη χρήση ογκομετρικού κυλίνδου πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης για την εξασφάλιση επαρκούς ποσότητας φωσφόρου κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Κατά το αρχικό στάδιο λειτουργίας του SBR, προστέθηκαν 0,25 g διαλύματος φωσφορικού καλίου (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) συγκέντρωσης 5.000 mg/L. Στη συνέχεια, τόσο η ποσότητα του προπιονικού οξέος όσο και η ποσότητα του φωσφόρου σταδιακά αυξήθηκαν στα 8,5 g COD και 0,5 g, αντίστοιχα, έτσι ώστε ο λόγος COD/P να ικανοποιεί τις μεταβολικές ανάγκες των PAOs.

Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου κυμάνθηκε μεταξύ 3 και 6 mg/L με σκοπό την κάλυψη του αερόβιου μεταβολισμού των PAOs και των νιτρωδοποιητών. Ο ρυθμός της αερόβιας πρόσληψης του φωσφόρου από τα PAOs είναι μεγαλύτερος από αυτόν της νιτρωδοποίησης από τα AOB ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου (Roots et al., 2020, Carvalheira et al., 2014c). Έτσι, η διακοπή του αερισμού τη στιγμή που σχεδόν ολόκληρη η ποσότητα του αμμωνιακού αζώτου έχει απομακρυνθεί, εξασφαλίζει την αναχαίτιση των NOB χωρίς να επηρεάσει τον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Επίσης, τα PAOs αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των GAOs σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου (Carvalheira et al., 2014c).

Παράμετρος	Συμβολισμός	Τιμή	Μονάδες
Παροχή λυμάτων	Q	5	L/d
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	HRT	2	d
Αμμωνιακή φόρτιση	A/M	0,06-0,15	g NH₄/m³-d
Χρόνος παραμονής στερεών	SRT	10	d
Οργανική φόρτιση	F/M	0,16-0,5	g COD/g MLVSS-d
Ολικά αιωρούμενα στερεά	MLSS	1,96-7	g/L
Αιωρούμενα πτητικά στερεά	MLVSS	1,64-4,66	g/L
Περίσσεια ιλύς	W	0,5-0,8	L/d

Πίνακας 4.1 /	\ειτουργικά	χαρακτηριστικά	SBR
---------------	-------------	----------------	-----

### 4.3 Παρακολούθηση συστήματος

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην προηγούμενη υποενότητα, το σύστημα χρειάστηκε περίπου 40 μέρες για να λειτουργεί σε σταθερές συνθήκες. Το διάστημα αυτό, ο έλεγχος της κατάστασης της βιομάζας πραγματοποιούταν μόνο μέσω πειραμάτων batch στη βιομάζα του SBR. Αφού το σύστημα πέτυχε σταθερή απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης και παράλληλης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, η παρακολούθηση του συστήματος γινόταν μία φορά την εβδομάδα. Η δειγματοληψία των 20 mL ανάμεικτου υγρού γινόταν απευθείας από τον SBR στην αρχή και στο τέλος της αναερόβιας φάσης, κάθε μισή ώρα κατά την αερόβια φάση και ένα λεπτό πριν την είσοδο της τροφής στη 1,5 ώρα της ανοξικής φάσης του πρώτου κύκλου λειτουργίας του αντιδραστήρα. Επίσης, οι τιμές του pH, της θερμοκρασίας, του διαλυμένου οξυγόνου μετρούνταν και καταγράφονταν τη στιγμή της κάθε δειγματοληψίας. Το κάθε δείγμα υφίσταντο φυγοκέντρηση και διήθηση μέσω μεμβράνης 0,45 μm με σκοπό τη μέτρηση των συγκεντρώσεων COD, αμμωνιακού αζώτου (NH<sub>4</sub>-N), νιτρωδών (NO<sub>2</sub>-N), νιτρικών (NO<sub>3</sub>-N) και ορθοφωσφορικών (PO<sub>4</sub>-P). Η δειγματοληψία των 5 mL ανάμικτου υγρού γινόταν κατά τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης για τη μέτρηση των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των παραπάνω παραμέτρων ήταν αυτή που περιγράφηκε αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.

#### 4.4 Πειράματα τύπου batch

Ο έλεγχος της κατάστασης της βιομάζας κατά το αρχικό στάδιο λειτουργίας του SBR και η διερεύνηση του βαθμού αναχαίτισης της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs υπό την ξεχωριστή και ταυτόχρονη παρουσία των διαφόρων συγκεντρώσεων της FA και του FNA για τις διαφορετικές τιμές του pH πραγματοποιήθηκαν μέσω πειραμάτων batch. Αρχικά, πραγματοποιήθηκαν πειράματα batch μόνο στη βιομάζα του αντιδραστήρα για τον έλεγχο του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης του φωσφόρου από τα PAOs κατά την περίοδο εγκλιματισμού της βιομάζας. Αφού το σύστημα πέτυχε σταθερή EBPR, πραγματοποιήθηκαν τρεις σειρές πειραμάτων batch για τη διερεύνηση της συνδυασμένης επίδρασης της FA και του FNA στον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Τα πειράματα batch πραγματοποιούνταν με τη χρήση του ανάμικτου υγρού από τον αντιδραστήρα SBR.

Ο έλεγχος της επίδρασης της αλατότητας στον αερόβιο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων έγινε μέσω ενός πειράματος batch, λόγω του αρκετά μεγαλύτερου πειραματικού ποσοστού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs κατά την ταυτόχρονη παρουσία της FA και του FNA με βάση τα αποτελέσματα προηγούμενων διπλωματικών εργασιών.

## 4.4.1 Έλεγχος της κατάστασης της βιομάζας στο αρχικό στάδιο λειτουργίας του SBR

Η παρακολούθηση της κατάστασης της βιομάζας, έτσι ώστε να εξεταστεί η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων, δηλαδή τα PAOs να προσλαμβάνουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης υπό αερόβιες συνθήκες πραγματοποιήθηκε μέσω πειραμάτων τύπου batch. Αρχικά, 500 mL ανάμεικτου υγρού μεταφέρονταν από τον αντιδραστήρα σε γυάλινο περιέκτη πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης και προτού εισέλθουν τα 100 mL του διαλύματος της τροφής στο σύστημα σε συνθήκες πλήρους μίξης. Η απαραίτητη ποσότητα φωσφόρου εισερχόταν στο ανάμεικτο υγρό του SBR πριν τη λήψη των 500 mL ανάμικτου υγρού. Έπειτα, ο περιέκτης υποβαλλόταν σε αναερόβιες συνθήκες για 1 ώρα και σε αερόβιες για 1,5 ώρα. Οι συνθήκες πλήρους μίξης εξασφαλίζονταν με τη χρήση συσκευής ανάδευσης η οποία αποτελούνταν από μαγνητική πλάκα. Έτσι, τοποθετούνταν μαγνήτης στο εσωτερικό των περιεκτών. Πριν την έναρξη του πειράματος, γινόταν προσθήκη κατάλληλου όγκου διαλύματος οξικού οξέος με τη χρήση αυτόματης πιπέτας, έτσι ώστε η συγκέντρωση του COD στον περιέκτη να είναι ίση με 200 mg/L (αρχή αναερόβιας φάσης). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της ερευνητικής εργασίας της Θέμελη Ε., 2019 και των Hood et Randall 2001, η επιλογή του οξικού οξέος ως πηγή οργανικού άνθρακα ευνόησε τον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs σε βραχυπρόθεσμες συνθήκες λειτουργίας. Το γεγονός αυτό πιθανώς οφείλεται στη σύσταση των PHAs τα οποία αποτελούνται κυρίως από PHB κατά την πρόσληψη του οξικού οξέος από τα PAOs υπό αναερόβιες συνθήκες. Τα PHV και PHMV, τα οποία είναι τα κύρια παράγωγα κατά την αναερόβια πρόσληψη του προπιονικού οξέος από τα PAOs, οξειδώνονται με πιο αργό ρυθμό κατά τον αερόβιο καταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων σε βραχυπρόθεσμες συνθήκες λειτουργίας (Oehmen et al., 2004).

Μετά τη 1 ώρα αναερόβιας φάσης, η διοχέτευση του οξυγόνου γινόταν με την τοποθέτηση ελαφρόπετρας, η οποία ήταν συνδεδεμένη μέσω πλαστικού καλωδίου σε αεραντλία, στον πυθμένα του περιέκτη. Το pH διατηρούνταν σταθερό στην τιμή που είχε το ανάμεικτο υγρό στον αντιδραστήρα SBR με απόκλιση ±0,05 καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος για την αποφυγή φαινομένων χημικής κατακρήμνισης φωσφόρου. Η μείωση και η αύξηση της τιμής του pH γινόταν με την προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος θειικού οξέος (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και καυστικού νατρίου (NaOH), αντίστοιχα.

Η δειγματοληψία 20 mL ανάμικτου υγρού γινόταν στην αρχή και στο τέλος της αναερόβιας φάσης και κάθε μισή ώρα κατά την αερόβια φάση με σκοπό τον προσδιορισμό της εκλυόμενης και της προσλαμβανόμενης συγκέντρωσης των ορθοφωσφορικών από τα PAOs στις διάφορες φάσεις. Το κάθε δείγμα υποβαλλόταν σε φυγοκέντρηση και διήθηση μέσω μεμβράνης 0,45 μm για τη μέτρηση των νιτρωδών, των νιτρικών και των ορθοφωσφορικών. Η μέτρηση των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών πραγματοποιούνταν μέσω της λήψης 5 mL ανάμικτου υγρού εντός της αναερόβιας φάσης λειτουργίας, σύμφωνα με την αναλυτική μέθοδο που περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο.

# 4.4.2 Διερεύνηση της συνδυασμένης επίδρασης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας στον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs

Αφού επιτεύχθηκαν σταθερές συνθήκες λειτουργίας στον αντιδραστήρα SBR, ο οποίος τροφοδοτήθηκε με μοναδική πηγή άνθρακα το προπιονικό οξύ, σειρές πειραμάτων batch πραγματοποιήθηκαν στην εγκλιματισμένη βιομάζα των PAOs στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών. Σκοπός των πειραμάτων αυτών ήταν ο προσδιορισμός του ποσοστού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια κατά την ξεχωριστή και ταυτόχρονη

παρουσία της FA και του FNA για τις διαφορετικές τιμές του pH. Οι τρεις σειρές πειραμάτων batch πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νιτρώδους και αμμωνιακού αζώτου στο ανάμεικτο υγρό για pH ίσο με 7,5, 8 και 8,5.

Το κάθε πείραμα batch περιλάμβανε τέσσερις γυάλινους περιέκτες οι οποίοι περιείχαν 500 mL ανάμικτου υγρού ο καθένας. Το ανάμεικτο υγρό συλλεγόταν από τον SBR πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης λειτουργίας και προτού την είσοδο των 100 mL του διαλύματος τροφής σε συνθήκες πλήρους μίξης. Η απαραίτητη ποσότητα φωσφόρου είχε προστεθεί στο ανάμεικτο υγρό πριν τη μεταφορά του στους περιέκτες. Στη συνέχεια, οι περιέκτες τίθονταν σε ανάδευση και γινόταν ρύθμιση του pH, ανάλογα με τις ανάγκες του κάθε πειράματος. Το pH ρυθμιζόταν με την προσθήκη διαλύματος θειικού οξέος (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ή καυστικού νατρίου (NaOH) πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης και κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Η θερμοκρασία στο ανάμεικτο υγρό διατηρούταν περίπου στους 20°C.

Το ένα δοχείο χρησιμοποιούνταν για το πείραμα αναφοράς (control) με σκοπό να υπολογιστεί ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs απουσία αναχαιτιστικών ουσιών και με βάση αυτόν να προσδιοριστεί το ποσοστό αναχαίτισης του PURaer παρουσία της FA και του FNA. Στο δοχείο Α γινόταν προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος νιτρώδους νατρίου συγκέντρωσης 5.000 mg/L, ενώ στο δοχείο Β εισερχόταν κατάλληλη ποσότητα διαλύματος χλωριούχου αμμωνίου συγκέντρωσης 20.000 mg/L. Η προσθήκη των ποσοτήτων των παραπάνω διαλυμάτων γινόταν με βάση την επιθυμητή συγκέντρωση νιτρώδους και αμμωνιακού αζώτου που θέλαμε να πετύχουμε στο ανάμεικτο υγρό για την εκτέλεση του κάθε πειράματος. Το δοχείο Γ περιείχε ταυτόχρονα τις ίδιες συγκεντρώσεις νιτρωδών και αμμωνιακού αζώτου που προσθέτονταν στα δοχεία Α και Β, αντίστοιχα, για τον προσδιορισμό του ποσοστού αναχαίτισης του PUR υπό την συνδυασμένη επίδραση του FNA και της FA. Οι τέσσερις περιέκτες υποβάλλονταν σε 1 ώρα αναερόβια και σε 3,5 ώρες αερόβια φάση. Πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης, γινόταν προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας αμμωνιακού αζώτου στα δοχεία Β και Γ. Έπειτα, τα δοχεία αφήνονταν για μισή ώρα σε συνθήκες πλήρους μίξης, έτσι ώστε να αποφευχθεί η χημική κατακρήμνιση φωσφόρου, λόγω της προσθήκης αμμωνίας (Θέμελη Ε.,2019). Μετά τη μισή ώρα και πριν την αρχή

της αναερόβιας φάσης γινόταν προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας διαλύματος οξικού οξέος, έτσι ώστε η συγκέντρωση να είναι ίση με 200 mg COD/L στον κάθε περιέκτη (αρχή αναερόβιας). Η επιλογή του είδους της πηγής άνθρακα στηρίχθηκε στην ίδια λογική που περιγράφηκε στην υποενότητα 4.4.1. Κατά τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης, 5 mL ανάμικτου υγρού απομακρύνονταν με τη χρήση αυτόματης πιπέτας από το δοχείο αναφοράς και το Γ για τον προσδιορισμό των TSS και VSS, σύμφωνα με τη μέθοδο του κεφαλαίου 3. Η λήψη του δείγματος από το δοχείο Γ γινόταν για την επαναληψιμότητα της μέτρησης. Μετά τη 1 ώρα αναερόβιας φάσης, γινόταν προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας διαλύματος νιτρώδους νατρίου στα δοχεία Α και Γ και τοποθετούνταν οι ελαφρόπετρες, οι οποίες ήταν συνδεδεμένες μέσω πλαστικών καλωδίων σε αεραντλία, στον πυθμένα των τεσσάρων περιεκτών για τη διοχέτευση του οξυγόνου.

Οι τιμές του pH και της θερμοκρασίας διατηρούνταν σταθερές καθ'όλη τη διάρκεια των πειραμάτων με απόκλιση ±0,05 και ±1°C, αντίστοιχα, έτσι ώστε να μπορούν να υπολογιστούν οι συγκεντρώσεις της FA και του FNA οι οποίες εξαρτώνται από το pH, τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση του αντίστοιχου υποστρώματος. Επίσης, η τιμή του pH είναι σημαντικό να παραμένει σταθερή για να διατηρείται η αναλογία μεταξύ των συγκεντρώσεων αμμωνιακού αζώτου και της ελεύθερης αμμωνίας και αντίστοιχα των νιτρωδών και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος. Ακόμη, φαινόμενα χημικής κατακρήμνισης φωσφόρου δεν παρατηρήθηκαν, καθώς οι τιμές του pH διατηρήθηκαν σταθερές. Η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος θειουρίας συγκέντρωσης 2.000 mg/L στην αρχή της αναερόβιας φάσης στους 4 περιέκτες κρίθηκε αναγκαία για την αναχαίτιση της νιτροποίησης, έτσι ώστε οι συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου να μην μεταβάλλονται.

Η δειγματοληψία των 20 mL ανάμικτου υγρού γινόταν στην αρχή και στο τέλος της αναερόβιας φάσης και κάθε μισή ώρα κατά τη διάρκεια της αερόβιας φάσης. Έπειτα, ακολουθούσε φυγοκέντρηση και διήθηση του κάθε δείγματος μέσω μεμβράνης 0,45 μm για τη μέτρηση του αμμωνιακού αζώτου, των νιτρωδών και των ορθοφωσφορικών.

## 4.4.3 Διερεύνηση της επίδρασης της αλατότητας στον αερόβιο ρυθμό πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch τα οποία θα παρουσιαστούν και θα σχολιαστούν παρακάτω, ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου παρουσίασε μεγαλύτερο πειραματικό βαθμό αναχαίτισης από τον αναμενόμενο υπό την ταυτόχρονη παρουσία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας στο δοχείο Γ. Η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας νιτρώδους νατρίου συγκέντρωσης 5.000 mg/L και χλωριούχου αμμωνίου συγκέντρωσης 20.000 mg/L για τις ανάγκες του κάθε πειράματος (υποενότητα 4.4.2) οδηγεί στη δημιουργία σημαντικής ποσότητας διαλυτών στερεών. Οι μέσες συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου ήταν ίσες με 15-55 mg NO2-N/L και 116-696 mg NH<sub>4</sub>-N/L στο δοχείο Γ στις τρεις σειρές πειραμάτων batch που πραγματοποιήθηκαν. Επομένως, ο σχετικά υψηλός βαθμός αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου μπορεί να οφείλεται στην παρουσία υψηλής αλατότητας. Για τη διερεύνηση του φαινομένου αυτού, πραγματοποιήθηκε πείραμα batch το οποίο αποτελούνταν από δύο γυάλινους περιέκτες. Ο καθε περιέκτης περιείχε 500 mL ανάμικτου υγρού το οποίο συλλέχθηκε σε συνθήκες πλήρους μίξης από τον αντιδραστήρα SBR προτού την έναρξη της αναερόβιας φάσης και την είσοδο της τροφής (100 mL). Επίσης, η απαραίτητη ποσότητα φωσφόρου είχε προστεθεί στο ανάμεικτο υγρό πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης του SBR. Οι περιέκτες τέθηκαν σε ανάδευση και έγινε ρύθμιση του pH στο 8. Το pH διατηρήθηκε σταθερό με απόκλιση ±0,05 καθ'όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, έτσι ώστε να αποφευχθούν φαινόμενα χημικής κατακρήμνισης φωσφόρου. Το δοχείο C χρησιμοποιήθηκε ως πείραμα αναφοράς (control). Στο δοχείο Α προστέθηκαν 124 mg διαλύματος χλωριούχου νατρίου (NaCl) συγκέντρωσης 20.000 mg/L με βάση τις ποσότητες του νιτρώδους και αμμωνιακού αζώτου που θέλαμε να πετύχουμε για τις ανάγκες του κάθε πειράματος, όπως περιγράφηκε στην ενότητα 4.3.2. Επίσης, προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα διαλύματος θειουρίας συγκέντρωσης 2.000 mg/L, έτσι ώστε να αναχαιτιστεί η διαδικασία της νιτροποίησης και η ποσότητα του αμμωνιακού αζώτου να χρησιμοποιηθεί από τη βιομάζα για τη σύνθεση. Τα δοχεία τέθηκαν σε 1 ώρα

αναερόβια και 2 ώρες αερόβια φάση. Πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης, προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα διαλύματος οξικού οξέος για να έχουμε συγκέντρωση COD ίση με 200 mg/L στον κάθε περιέκτη. Η δειγματοληψία πραγματοποιούνταν στην αρχή και στο τέλος της αναερόβιας φάσης και κάθε μισή ώρα στην αερόβια φάση. Τα δείγματα τίθονταν σε φυγοκέντρηση και διήθηση μέσω μεμβράνης 0,45 μm για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων των ορθοφωσφορικών και του αμμωνιακού αζώτου. Επίσης, ο προσδιορισμός των ολικών και πτητικών στερεών έγινε σύμφωνα με τη γνωστή διαδικασία (ενότητα 3.2), λαμβάνοντας 5 mL ανάμικτου υγρού από το δοχείο C κατά την αναερόβια φάση.

### 5 Παρουσίαση και ανάλυση αποτελεσμάτων

#### 5.1 Γενικά

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας διερευνήθηκε η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρα SBR ο οποίος πραγματοποιούσε ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν τρεις σειρές πειραμάτων batch σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου και νιτρωδών για pH ίσο με 7,5, 8 και 8,5, έτσι ώστε να προσδιοριστεί ο βαθμός αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs κατά τη συνδυασμένη επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Η βιομάζα που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα αυτά συλλέχθηκε από τον εργαστηριακό αντιδραστήρα SBR. Ο σχεδιασμός και η λειτουργία του συγκεκριμένου αντιδραστήρα περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο.

Η μεταβολή της τιμής του pH διαταράσσει την ισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων του αμμωνιακού αζώτου (NH4<sup>+</sup>) και της ελεύθερης αμμωνίας (NH3). Το ίδιο ισχύει για τα νιτρώδη (NO2<sup>-</sup>) και το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (HNO2). Η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας αυξάνεται σε αλκαλικό περιβάλλον, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:

#### $NH_4^+ + OH^- \rightarrow NH_3 + H_2O$

Αντιθέτως, τα νιτρώδη μετατρέπονται σε ελεύθερο νιτρώδες οξύ με την παραγωγή ιόντων υδρογόνου κατά τη διαδικασία της νιτρωδοποίσης. Επομένως, η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος αυξάνεται με τη μείωση της τιμής του pH, δηλαδή σε ουδέτερο προς όξινο περιβάλλον σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:

#### $H^+ + NO_2^- \rightarrow HNO_2$

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ελεύθερη αμμωνία και το ελεύθερο νιτρώδες οξύ αποτελούν αναχαιτιστικές ή ακόμη και τοξικές ουσίες για τις μεταβολικές διεργασίες των πολυφωσφορικών βακτηριών σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου και νιτρωδών, ανάλογα με την τιμή του pH και της θερμοκρασίας. Τα πειράματα batch πραγματοποιήθηκαν σε σταθερό pH, έτσι ώστε να αποφευχθούν φαινόμενα χημικής κατακρήμνισης φωσφόρου και να διατηρηθεί η ισσοροπία τόσο μεταξύ των συγκεντρώσεων του αμμωνιακού αζώτου και της ελεύθερης αμμωνίας όσο και των συγκεντρώσεων των νιτρωδών και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Επίσης, η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος θειουρίας κρίθηκε αναγκαία, έτσι ώστε οι συγκεντρώσεις του αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου να μην μεταβάλλονται και η αναχαίτιση που προκαλείται από την FA και το FNA να είναι ίδια καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Η επίδραση της αλατότητας στον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs προσδιορίστηκε μέσω πειράματος batch. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος, ο PURaer δεν αναχαιτίστηκε με την προσθήκη 124 mg διαλύματος χλωριούχου νατρίου συγκέντρωσης 20.000 mg/L. Επομένως, η αερόβια δέσμευση φωσφόρου από τα PAOs επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες και κυρίως από τις λειτουργικές και φυσικοχημικές παραμέτρους του συστήματος τη χρονική περίοδο που διεξάγονται τα πειράματα batch. Σύμφωνα με τον Φραγκισκάτο, 2017, ο PURaer αναχαιτίζεται σε ποσοστό 9% για συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 300 mg/L και σε pH ίσο με 8, εξαιτίας της αλατότητας του διαλύματος. Συνεπώς, ο υψηλότερος πειραματικός βαθμός αναχαίτισης σε σχέση με τον αναμενόμενο που παρατηρήθηκε στα αποτελέσματα των πειραμάτων batch, τα οποία θα σχολιαστούν αναλυτικά παρακάτω, δεν οφείλεται στη παρουσία αλατότητας.

Στο παρόν κεφάλαιο, περιγράφονται αναλυτικά τα λειτουργικά χαρακτηριστικά, οι συγκεντρώσεις των συμβατικών ρύπων (PO4-P, NH4-N, COD, NO3-N, NO2-N, TSS και VSS) και των αναχαιτιστικών ουσιών (FA, FNA) που μετρήθηκαν στα πλαίσια της εβδομαδιαίας παρακολούθησης του συστήματος για τις δύο διαφορετικές περιόδους λειτουργίας του αντιδραστήρα SBR. Επίσης, παρουσιάζεται μέσω διαγραμμάτων η μεταβολή του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου σε σχέση με την αλλαγή των συγκεντρώσεων των συμβατικών ρύπων και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Επίσης, γίνεται αναλυτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων ενός από τα πειράματα batch, έτσι ώστε να περιγραφεί ο τρόπος υπολογισμού του

αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου και του ποσοστού αναχαίτισης αυτού υπό την ξεχωριστή και συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA. Στη συνέχεια, σχολιάζονται και παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των υπόλοιπων πειραμάτων batch μέσω πινάκων.

#### 5.2 Αποτελέσματα SBR

#### 5.2.1 1<sup>η</sup> Περίοδος λειτουργίας (4/11/2020-17/01/2021)

Η 1<sup>η</sup> περίοδος λειτουργίας του συστήματος ξεκίνησε όταν η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων είχε επιτευχθεί και ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου ήταν ίσος με 10,5 mg P/g VSS-h με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch για τον έλεγχο της κατάστασης της βιομάζας του SBR. Ο σχεδιασμός του συστήματος περιγράφηκε αναλυτικά στην ενότητα 4.2.1. Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά του SBR, εκτός της εισερχόμενης αμμωνιακής, οργανικής φόρτισης και των συγκεντρώσεων των ολικών, πτητικών αιωρούμενων στερεών, παρέμειναν σταθερά κατά τη μακροχρόνια λειτουργία του αντιδραστήρα.

Το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου σταδιακά αυξήθηκε και ήταν ίσο με 0,1±0,02 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d από 4/11/2020 έως 13/01/2020. Όπως έχει αναφερθεί αναλυτικά στην ενότητα 4.2, το διάλυμα της τροφής αποτελούνταν από στραγγίδια αφυδάτωσης κατάλληλα αραιωμένα με νερό βρύσης, έτσι ώστε να πετύχουμε το επιθυμητό φορτίο αμμωνίας στην είσοδο του SBR. Η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλύματος χλωριούχου αμμωνίου συγκέντρωσης 20.000 mg/L γινόταν όταν η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στα 800 mL στραγγιδίων αφυδάτωσης που τροφοδοτούνταν ημερησίως στο σύστημα δεν επαρκούσε για τη φόρτιση αμμωνίας που θέλαμε να έχουμε. Η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου των στραγγιδίων αφυδάτωσης ήταν μεταξύ 780-1.577 mg NH<sub>4</sub><sup>-</sup>-N/L. Επίσης, γινόταν προσθήκη προπιονικού οξέος στο διάλυμα της τροφής, έτσι ώστε να ευνοηθεί ο αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs. Η ποσότητα του ευκολοδιασπάσιμου COD σταδιακά αυξήθηκε από τα 7 στα 8,5 g COD/d εντός της συγκεκριμένης χρονικής περιόδου για την κάλυψη των μεταβολικών αναγκών των πολυφωσφορικών και των τυπικών ετεροτροφικών απονιτροποιητικών βακτηρίων. Η ποσότητα φωσφόρου ήταν ίση με 0,5 g/d για την εξασφάλιση κατάλληλου λόγου COD/P στην είσοδο του SBR με σκοπό τη κάλυψη τόσο του αναερόβιου όσο και του αερόβιου/ανοξικού μεταβολισμού των PAOs (Wang et al., 2009). Το pH και η θερμοκρασία του συστήματος διατηρούνταν σταθερά στο 7,5-8,2 και στους 16-20°C, αντίστοιχα. Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου ήταν μεγαλύτερη των 3 mg/L καθ'ολη τη διάρκεια λειτουργίας του SBR. Επίσης, η τιμή του pH και η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του SBR ελέγχονταν καθημερινά για την ομαλή λειτουργία του συστήματος και την αποφυγή συσσώρευσης αμμωνίας στον αντιδραστήρα.

Παράμετρος	Συμβολισμός	Τιμή	Μονάδες
Παροχή λυμάτων	Q	5	L/d
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	HRT	2	d
Αμμωνιακή φόρτιση	A/M	0,1±0,02	g NH₄/m³-d
Χρόνος παραμονής στερεών	SRT	10	d
Οργανική φόρτιση	F/M	0,18-0,5	g COD/g MLVSS-d
Ολικά αιωρούμενα στερεά	MLSS	2,4-7	g/L
Αιωρούμενα πτητικά στερεά	MLVSS	1,64-4,6	g/L
Περίσσεια ιλύς	W	0,5-0,8	L/d

Πίνακας 5.1 Λειτουργικά χαρακτηριστικά 1ης περιόδου λειτουργίας του SBR

Η παρακολούθηση του συστήματος (ενότητα 4.3) γινόταν μία φορά την εβδομάδα για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων των συμβατικών ρύπων (PO<sub>4</sub>-P, NH<sub>4</sub>-N, COD, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, TSS και VSS) κατά τη διάρκεια των διαφορετικών φάσεων του πρώτου κύκλου λειτουργίας του SBR. Τα νιτρωδοποιητικά βακτήρια πέτυχαν σταθερή απομάκρυνση αζώτου με μία υπολειμματική συγκέντρωση αμμωνίας στην εκροή του SBR περίπου ίση με 10±5 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/L, έτσι ώστε η συγκέντρωση της FA να επαρκεί για την αναχαίτιση των NOB. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του SBR οφείλονταν κυρίως σε προβλήματα έμφραξης των ελαφρόπετρων μέσω των οποίων διοχετευόταν το οξυγόνο στον πυθμένα του SBR. Η εφαρμογή υψηλής αμμωνιακής φόρτισης στην εκίτευξη της νιτρωδοποίησης, καθώς η μέση συγκέντρωση της FA ήταν ίση με 0,2 mg NH<sub>3</sub>-N/L

στην αρχή της αερόβιας φάσης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των παρακολουθήσεων που πραγματοποιήθηκαν κατά τη 1<sup>η</sup> περίοδο λειτουργίας του SBR, οι συγκεντρώσεις των νιτρωδών ήταν μεταξύ 4,05 και 12,86 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L, ενώ των νιτρικών ήταν μεταξύ 1,03-4,18 mg NO<sub>3</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης, υποδεικνύοντας την επικράτηση των AOB έναντι των NOB. Έτσι, η συνεχής έκθεση των PAOs στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου οδήγησε στον εγκλιματισμό της βιομάζας σε αυτές. Η μέση συγκέντρωση FNA δεν ξεπέρασε τα 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L με βάση τις τιμές του pH και της θερμοκρασίας στο τέλος της αερόβιας με 18-20 mg P/g VSS/h με μέση εισερχόμενη αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,1 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>- d κατά την 1<sup>η</sup> περίοδο λειτουργίας του συστήματος.

Στις 9/12/2020, ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου παρουσίασε βαθμό αναχαίτισης 52%, καθώς μειώθηκε από 20,08 σε 9,64 mg P/g VSS/h. Η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος ήταν ίση με 0,1x10<sup>-3</sup> και 0,18x10<sup>-3</sup> mg HNO2-N/L στη 0,5 και 1 ώρα αερόβιας φάσης, αντίστοιχα. Οι Pijuan et al., 2010, παρατήρησαν ότι ο PURaer αναχαιτίζεται σε ποσοστό 50% σε συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος ίση με 0,52x10<sup>-3</sup> mg HNO2-N/L. Επομένως, ο βαθμός αναχαίτισης του PURaer (52%) είναι αρκετά μεγαλύτερος από τον αναμενόμενο για τη συγκεκριμένη ποσότητα ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Η συγκέντρωση των νιτρωδών ήταν ίση με 10,45 mg NO2--N/L (0,13x10<sup>-3</sup> mg HNO2-N/L) στο τέλος της αερόβιας φάσης. Η υψηλή συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου που καταγράφηκε στη 1,5 ώρα της ανοξικής φάσης έδειξε τον ανεπαρκή ανοξικό μεταβολισμό τόσο των PAOs όσο και των τυπικών απονιτροποιητικών βακτηρίων. Η Κούκουρα Α., 2020 κατέγραψε βαθμό αναχαίτισης του ανοξικού PUR ίσο με 32% σε συγκέντρωση 0,76x10-3 mg HNO2-N/L για pH ίσο με 8. Έτσι, τόσο ο ανοξικός όσο και ο αερόβιος μεταβολισμός των PAOs φαίνεται να μην επηρεάστηκαν από τη παρουσία του FNA. Την ίδια μέρα, η συγκέντρωση του COD ήταν αρκετά χαμηλή και ίση με 76,4 mg/L στην αρχή της αναερόβιας φάσης. Το γεγονός αυτό πιθανώς υποβάθμισε τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs και τη μετέπειτα απονιτρωδοποίηση κατά την ανοξική φάση. Υπό αναερόβιες συνθήκες, η έλλειψη δότη ηλεκτρονίων (COD) δεν επιτρέπει το σχηματισμό επαρκούς ποσότητας PHAs στο εσωτερικό του κυττάρου των PAOs

με αποτέλεσμα να μη μπορούν να προσλάβουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης υπό αερόβιες συνθήκες. Σύμφωνα με τους Zeng et al., 2011, ο μεταβολισμός των PAOs επηρεάστηκε περισσότερο από την έλλειψη πηγής άνθρακα παρά από τη παρουσία της υψηλής συγκέντρωσης νιτρώδους αζώτου (20 mg NO2-N/L) στο τέλος της αερόβιας φάσης σε A/O βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με νιτρωδοποίησηαπονιτρωδοποίησης. Η παρουσία υψηλής συγκέντρωσης νιτρωδών, λόγω της ανεπαρκούς απονιτρωδοποίησης στην αρχή της αναερόβιας φάσης οδήγησε στην επικράτηση των ετεροτροφικών απουιτροποιητικών βακτηρίων έναντι των PAOs, υποβαθμίζοντας τη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Το ίδιο παρατηρήθηκε στον εργαστηριακό αντιδραστήρα SBR με βάση τις μετρήσεις στις 9/12/2020, καθώς η συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου ήταν σχεδόν ίση με 8 mg NO2-N/L στη 1,5 ώρα της ανοξικής φάσης. Έτσι, η ποσότητα του προπιονικού οξέος αυξήθηκε από 8 σε 8,5 g COD/d στο διάλυμα της τροφής του SBR, προκειμένου να διασφαλιστεί η απουσία αποδέκτη ηλεκτρονίων στο αναερόβιο τμήμα του αντιδραστήρα και να ευνοηθεί ο αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs.

Ο μεγαλύτερος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου (PURaer=30,3 mg P/g VSS/h) παρατηρήθηκε στις 23/12/2020, 1 εβδομάδα μετά τη μέγιστη συγκέντρωση νιτρωδών (12,6 mg NO2-N/L) στο τέλος του αερισμού. Η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος ήταν ίση με 0,09x10-3 mg HNO2-N/L (6 mg NO2-N/L) για pH ίσο με 8,2 στο τέλος της αερόβιας φάσης. Υπό αυτές τις συνθήκες, η συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου ήταν ίση με 0,25 mg NO2-N/L στη 1,5 ώρα ανοξικής φάσης, υποδεικνύοντας την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου μέσω των μεταβολικών διεργασιών του ανοξικού μεταβολισμού των PAOs. Επίσης, η αύξηση της ποσότητας του προπιονικού οξέος στα 8,5 g COD στο διάλυμα της τροφής ευνόησε το μεταβολισμό των ΝΟx-Ν ήταν αμελητέα στην πρώτη 1,5 ώρα της ανοξικής φάσης.

Η μείωση της συγκέντρωσης νιτρώδους αζώτου από 12 σε 6 mg NO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης στις 23/12/2020, φαίνεται να επηρέασε τον PURaer ο οποίος μειώθηκε από 38,3 σε 23,84 mg P/g VSS/h ,1 εβδομάδα μετά στις 29/12/2020. Στις 5/01/2021, ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου μειώθηκε

από 23,84 σε 11,44 mg P/g VSS/h. Το γεγονός αυτό πιθανώς οφείλεται στη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου η οποία ήταν ίση με 11,6 mg NO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 7,95 στην πρώτη ώρα αερισμού. Η παρουσία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος σε συγκέντρωση ίση με 0,36x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L προκάλεσε αναχαίτιση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου, καθώς η βιομάζα ήταν εγκλιματισμένη σε συγκέντρωση μικρότερη του 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης. Οι Sin et al., 2008 κατέγραψαν βαθμό αναχαίτισης αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου ίσο με 29% σε συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 5 mg NO<sub>2</sub>-N/L για pH περίπου ίσο με 7,5, χρησιμοποιώντας μη εγκλιματισμένη βιομάζα στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών. Σύμφωνα με τον Φραγκισκάτο Γ., 2018, ο βαθμός αναχαίτισης του PURaer είναι ίσος με 12% σε συγκέντρωση 10 mg NO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 8. Επομένως, ο αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του PURaer σε συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 11,6 mg NO<sub>2</sub>-N/L είναι πολύ μικρότερος από το 52%. Επομένως, διαπιστώνουμε ότι η αναχαίτιση του PURaer οφείλεται κυρίως στην παρουσία του FNA παρά στη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου. Η μείωση της συγκέντρωσης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στα 0,05 mg HNO2-N/L στη 1 ώρα αερόβιας φάσης οδήγησε στην αποκατάσταση του PURaer στα 24 mg P/g VSS/h. Ο μέσος ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου ήταν ίσος περίπου με 8-10 mg P/g VSS/h.

# 5.2.2 Αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου (PURaer) από τα πολυφωσφορικά βακτήρια

Στα πλαίσια της εβδομαδιαίας in-situ παρακολούθησης του συστήματος, γινόταν καταγραφή του PURaer, έτσι ώστε να διερευνηθεί η ικανότητα των πολυφωσφορικών βακτηρίων να προσλαμβάνουν τα ορθοφωσφορικά της υγρής φάσης υπό αερόβιες συνθήκες σε αντιδραστήρα SBR με ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Ο ανοξικός ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια ήταν δύσκολο να καταγραφεί, καθώς οι συγκεντρώσεις των ορθοφωσφορικών ήταν αμελητέες κατά την ανοξική φάση.

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου πραγατοποιούνταν μέσω του αερόβιου/ανοξικού μεταβολισμού των πολυφωσφορικών βακτηρίων, τα οποία προσλαμβάνουν φώσφορο, οξειδώνοντας τα εσωτερικά αποθηκευμένα PHAs με αποδέκτη ηλεκτρονίων το οξυγόνο ή τα νιτρικά/νιτρώδη. Ωστόσο, η ρύθμιση του pH δεν αποτελεί αυτοματοποιημένη διαδικασία του συστήματος με αποτέλεσμα ένα μέρος των ορθοφωσφορικών να απομακρύνεται μέσω χημικής κατακρήμνισης, λόγω της απότομης μεταβολής του pH. Η διατήρηση των τιμών του pH εντός του εύρους 7,5-8,2 γινόταν κυρίως μέσω των μεταβολικών διεργασιών των νιτρωδοποιητικών, απονιτροποιητικών και πολυφωσφορικών βακτηρίων.

Τα αποτελέσματα των εβδομαδιαίων παρακολουθήσεων για το μήνα Δεκέμβριο 2020 παρουσιάζονται στο παρακάτω διάγραμμα και ο PURaer υπολογίζεται από την κλίση των εξισώσεων των γραμμών τάσεων προς τη συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών (MLVSS). Η ίδια μεθοδολογία ακολουθήθηκε για τον υπολογισμό του PURaer τους υπόλοιπους μήνες (Νοέμβριος, Ιανουάριος).



Σχήμα 5.1 Γραμμική μεταβολή συγκέντρωσης φωσφόρου για τις 2/12, 9/12, 23/12, 29/12.

$$PUR_{2/12} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{45,4}{2,26} = 20,08 \text{ mg P/g VSS/ hr}$$
$$PUR_{9/12} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{28,54}{2,96} = 9,64 \text{ mg P/g VSS/ hr}$$

$$PUR_{16/12} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{38,3}{3,72} = 10,3 \text{ mg P/g VSS/ hr}$$

$$PUR_{23/12} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{64,31}{1,68} = 38,3 \text{ mg P/g VSS/ hr}$$

$$PUR_{29/12} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{104,92}{4,4} = 23,84 \text{ mg P/g VSS/ hr}$$

Στο παρακάτω διάγραμμα φαίνεται η απόδοση της EBPR για την  $1^{\eta}$  περίοδο λειτουργίας του συστήματος με μέση εισερχόμενη αμμωνιακή φόρτιση περίπου ίση με 0,1 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d σύμφωνα με το μέσο μηνιαίο αερόβιο PUR.



Σχήμα 5.2 Μέσος μηνιαίος PURaer για την 1η περίοδο λειτουργίας του συστήματος.

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται ότι ο μέγιστος μέσος PURaer καταγράφηκε το μήνα Δεκέμβριο. Η απομάκρυνση του αμμωνιακού αζώτου πραγματοποιούνταν μέσω της διαδικασίας της νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης καθ'όλη τη διάρκεια της 1<sup>ης</sup> περίοδου λειτουργίας του SBR. Το υψηλό εισερχόμενο φορτίο αζώτου (0,1±0,02 g NH₄/m³-d) εξασφάλισε επαρκή συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας για την αναχαίτιση των NOB. Η μέση συγκέντρωση της FA ήταν ίση με 0,2 mg NH₃-N/L για μέσο pH ίσο με 7,5 στην αρχή της αερόβιας φάσης το μήνα Δεκέμβριο. Ο μεγαλύτερος PURaer (PURaer=38,3 mg P/g VSS/hr) παρατηρήθηκε 1 εβδομάδα μετά από την καταγραφή της μεγαλύτερης συγκέντρωσης νιτρώδους αζώτου (12,86 mg NO<sub>2</sub>-N/L) στις 2 ώρες αερόβιας φάσης. Η συνεχής έκθεση των PAOs στο νιτρώδες άζωτο οδήγησε στον εγκλιματισμό της βιομάζας, πετυχαίνοντας μέσο αερόβιο PUR ίσο με 20,43 mg P/g VSS/hr σε μέση συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 9,21 mg NO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης. Η μέση συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους αζώτου δεν ξεπέρασε τα 0,14x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στις 2 ώρες αερισμού, δεδομένου της τιμής του pH και της θερμοκρασίας, το μήνα Δεκέμβριο. Ωστόσο, παρατηρούμε ότι η αύξηση της συγκέντρωσης FNA στα 0,2x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης προκαλεί αναχαίτιση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου περίπου κατά 35-40%. Η αύξηση της ποσότητας του προπιονικού οξέος ενίσχυσε τον ανοξικό μεταβολισμό των απονιτροποητικών βακτηρίων, διασφαλίζοντας την απουσία αποδέκτη ηλεκτρονίων στην αρχή της αναερόβιας φάσης.

	рН	NO2-N (mg/L)	FNA (mg/L)	PURaer (mgP/grVSS/hr)
2/12	8,24	7,05	0,11x10 <sup>-3</sup>	20,08
9/12	8,32	10,46	0,14x10 <sup>-3</sup>	9,64
16/12	8,43	12,86	0,13x10 <sup>-3</sup>	10,3
23/12	8,24	6	0,09x10 <sup>-3</sup>	38,3
29/12	8,11	9,7	0,21x10 <sup>-3</sup>	23,84

Πίνακας 5.2 Παρακολούθηση συστήματος: Δεκέμβριος 2020

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η διατήρηση του pH του συστήματος μεταξύ του 7,5 και του 8,2 πραγματοποιείται μέσω των μεταβολικών διεργασιών των πολυφωσφορικών, νιτρωδοποιητικών, απονιτροποιητικών βακτηρίων. Επομένως, η απότομη μεταβολή του pH προκαλεί φαινόμενα χημικής κατακρήμνισης φωσφόρου σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος, στο οποίο η ρύθμιση του pH δεν αποτελεί αυτοματοποιημένη διαδικασία. Για το λόγο αυτό, τα πειράματα Control, τα οποία πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια των πειραμάτων batch (ενότητα 4.4.2), έγιναν σε

σταθερό pH και απουσία αναχαιτιστικών ουσιών, έτσι ώστε να προσδιοριστεί ο καθαρός αερόβιος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου από τα PAOs.

Στο Σχήμα 5.3, παρατηρούμε ότι οι τιμές του PURaer στον SBR δεν παρουσιάζουν μεγάλη απόκλιση από αυτές στα πειράματα Control των πειραμάτων batch για τη διερεύνηση του βαθμού αναχαίτισης του αερόβιου PUR υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι το σύστημα αποτελεί ένα δυναμικό περιβάλλον ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων, διότι η μεταβολή των περιβαλλοντικών, φυσικοχημικών παραμέτρων συμβαίνει ταυτόχρονα. Επομένως, η πιθανή διαφορά που προκύπει μεταξύ της τιμής PURaer στον SBR και στα Control, λόγω φαινομένων χημικής κατακρήμνισης φωσφόρου μπορεί να εξισορροπηθεί. Η χημική κατακρήμνιση φωσφόρου στον SBR, λόγω της μεταβολής του pH συμβαίνει ταυτόχρονα με τη μεταβολή των συγκεντρώσεων του αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου μέσω της νιτρωδοποίησης. Επομένως, ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου από τα PAOs είναι πιθανό να αναχαιτίζεται, λόγω της δημιουργίας του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας. Ο μέσος αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου στο σύστημα και στα πειράματα Control είναι περίπου ίσος με 18-20 mg P/gr VSS/hr κατά τη διάρκεια της 1<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του SBR.

Επίσης, στο Σχήμα 5.3 φαίνεται ότι ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα σε σχέση με το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου τόσο στον SBR όσο και στα Control πειράματα. Βέβαια, παρατηρούμε ότι ο PURaer αυξάνεται με χρονική καθυστέρηση 1 εβδομάδας κάθε φορά που μεταβάλλεται η εισερχόμενη αμμωνιακή φόρτιση στην είσοδο του SBR καθ'όλη τη διάρκεια της 1<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην ταυτόχρονη αύξηση της ελεύθερης αμμωνίας ή του ελεύθερου νιτρώδους οξέος κατά τη διάρκεια της νιτρωδοποίησης, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων αμμωνιακού αζώτου στην είσοδο του SBR. Οι Wang et al., 2020 παρατήρησαν ότι το μέσο ποσοστό απομάκρυνσης φωσφόρου μειώθηκε από 91,46±1,35% σε 84,52±4,91%, έπειτα από την ταυτόχρονη αύξηση των συγκεντρώσεων του αμμωνιακού αζώτου, οργανικού άνθρακα και φωσφόρου από

40 σε 80 mg/L, από 400 σε 800 mg/L και από 20 σε 40 mg/L, αντίστοιχα, στην είσοδο ενός Α/Ο/Α αντιδραστήρα τύπου SBR, ο οποίος λειτουργούσε για 9 μήνες.

Στο Σχήμα 5.3, παρατηρούμε ότι ο PURaer στον SBR παρουσιάζει απότομη μεταβολή στις 23/12/2020, παρά τη σταθερή εισερχόμενη φόρτιση αμμωνιακού αζώτου στα 0,1 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν παρατηρείται στις τιμές του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου των Control πειραμάτων για την ίδια χρονική περίοδο λειτουργίας του συστήματος. Επομένως, διαπιστώνουμε ότι ο PURaer επηρεάζεται από μία πληθώρα παραγόντων στον αντιδραστήρα σε αντίθεση με τα πειράματα αναφοράς. Συγκεκριμένα, ο μέγιστος αερόβιος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου (PURaer=38,3 mg P/gr VSS/hr) καταγράφηκε 1 εβδομάδα μετά τη μέγιστη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου στο τέλος της αερόβιας φάσης.



Σχήμα 5.3 Μεταβολή του PURaer σε σχέση με το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου με βάση τις τιμές που καταγράφηκαν στον SBR και στα πειράματα αναφοράς (Control) των τριών σειρών πειραμάτων batch κατά την αερόβια φάση.

Η αναχαίτιση των ΝΟΒ διατηρήθηκε καθ'όλη την 1<sup>η</sup> περίοδο λειτουργίας του συστήματος, καθώς η συγκέντρωση των νιτρωδών στο τέλος της αερόβιας φάσης ήταν πάντα μεγαλύτερη από αυτή των νιτρικών. Οι μέσες συγκεντρώσεις νιτρώδους και νιτρικού αζώτου ήταν ίσες με 9,34 mg NO<sub>2</sub>-N/L και 2,74 mg NO<sub>3</sub>-N/L, αντίστοιχα, στις 2 ώρες αερόβιας φάσης.

Στο παρακάτω διάγραμμα (Σχήμα 5.4) φαίνεται η διακύμανση του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου σε σχέση με τη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου στο τέλος της αερόβιας φάσης.

Όπως παρατηρήθηκε και κατά τη σταδιακή αύξηση του εισερχόμενου φορτίου αμμωνίας, ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου αυξάνεται με διαφορά φάσης 1 εβδομάδας, έπειτα από την αύξηση της συγκέντρωσης του νιτρώδους αζώτου. Αυτό συνδέεται άμεσα με τη δημιουργία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος κατά τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης. Επομένως, η βραχυχρόνια αντιστρόφως ανάλογη μεταβολή του PURaer σε σχέση με τη συγκέντρωση νιτρωδών πιθανώς οφείλεται στη παρουσία αναχαιτιστικών συγκεντρώσεων FNA (>0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L). Ωστόσο, ο αερόβιος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου φαίνεται να μεταβάλλεται ανάλογα με τις συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου σε μακροχρόνιες συνθήκες λειτουργίας. Ο μεγαλύτερος αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου (PURaer=38,3 mgP/grVSS/hr) καταγράφηκε 1 εβδομάδα μετά την αύξηση των νιτρωδών στα 12,86 mg NO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης. Αντιθέτως, ο PURaer μειώθηκε από 38,3 σε 23,84 mgP/grVSS/hr στις 29/12/2020, 1 εβδομάδα μετά τη μείωση της συγκέντρωσης νιτρώδους αζώτου από 12,86 σε 6 mg NO2-N/L. Στις 5/01/2021, ο PURaer συνέχιζε να μειώνεται παρά την αύξηση της συγκέντρωσης νιτρώδους αζώτου στα 9,7 mg NO<sub>2</sub>-N/L στις 29/12/2020. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο σχετικά χαμηλό pH και επομένως στην υψηλή συγκέντρωση FNA που παρατηρήθηκε στην αρχή της αερόβιας φάσης κατά τη διάρκεια του πρώτου κύκλου λειτουργίας του συστήματος. Η σχέση του PURaer με το FNA παρουσιάζεται και σχολιάζεται αναλυτικά παρακάτω (Σχήμα 5.6).

Η συνεχής έκθεση των PAOs στα νιτρώδη οδήγησε στον εγκλιματισμό της βιομάζας, βελτιώνοντας την απόδοση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου στον αντιδραστήρα SBR κατά την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης έδωσε ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs έναντι των GAOs κατά την ανοξική φάση. Επίσης, τα PAOs διέθεταν επαρκή ποσότητα εσωτερικά αποθηκευμένων PHAs για την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου υπό ανοξικές συνθήκες, λόγω του περιορισμένου χρόνου αερισμού (Chen et al., 2013).



Σχήμα 5.4 Επίδραση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στον PURaer.

#### 5.2.2.1 Επίδραση FNA στο σύστημα

Η αναχαίτιση των ΝΟΒ μέσω της επαρκούς συγκέντρωσης ελεύθερης αμμωνίας (>0,1 mg FA/L) σε συνδυασμό με το μικρό SRT και HRT οδήγησε στην έκθεση των PAOs στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου. Ο μεγαλύτερος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου καταγράφηκε στις 23/12/2020, 1 εβδομάδα μετά τη μέγιστη συγκέντρωση νιτρωδών στο τέλος της αερόβιας φάσης. Η συγκέντρωση FNA δεν ξεπέρασε τα 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L με βάση το pH και τη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της αερόβιας φάσης και κυρίως την πρώτη ώρα που πραγματοποιείται η αερόβια δέσμευση φωσφόρου από τα PAOs (Πίνακας 5.3).

Time (hr)	рН	FNA (mg/L)
0,5	7,84	0,00804x10 <sup>-3</sup>
1	8,1	0,01108x10 <sup>-3</sup>
1,5	8,29	0,04566x10 <sup>-3</sup>
2	8,24	0,0942x10 <sup>-3</sup>

Πίνακας 5.3 Συγκεντρώσεις FNA: Παρακολούθ	θηση συστήματος 23,	/12/2020
---	---------------------	----------





Στο παρακάτω διάγραμμα (Σχήμα 5.6) φαίνεται ότι ο PURaer μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με την αύξηση της συγκέντρωσης του FNA. Συγκεκριμένα, ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου φαίνεται να μην επηρεάζεται σε συγκεντρώσεις ελεύθερου νιτρώδους οξέος μικρότερες του 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης. Ωστόσο, παρατηρούμε την απότομη μείωση του PURaer τις ημέρες που η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος είναι μεγαλύτερη από 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στις 2 ώρες αερισμού. Επομένως, διαπιστώνουμε ότι ο αερόβιος μεταβολισμός των PAOs αναχαιτίζεται κυρίως από την έντονη παρουσία του FNA παρά από το νιτρώδες άζωτο σύμφωνα με τα αποτελέσματα της in-situ παρακολούθησης του συστήματος στο τέλος της αερόβιας

Επίσης, στο σχήμα 5.6 φαίνεται ότι τα PAOs μπορούν να ανακάμψουν εντός 1 εβδομάδας, δεδομένου ότι η συγκέντρωση FNA είναι μικρότερη από 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης. Η γρήγορη αποκατάσταση της αερόβιας δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs οφείλεται στην έκθεση της βιομάζας στις μη αναχαιτιστικές συγκεντρώσεις FNA κατά τη μακροχρόνια λειτουργία του SBR (Pijuan et al., 2010).





### 5.2.3 2<sup>η</sup> Περίοδος λειτουργίας (25/01/2021-25/04/2021)

Η αύξηση του εισερχόμενου φορτίου αζώτου πραγματοποιήθηκε σταδιακά από τα 0,1±0,02 στα 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d εντός μίας εβδομάδας (17/01/2021-25/01/2021). Έτσι, το σύστημα λειτουργούσε με εισερχόμενο φορτίο αμμωνίας ίσο με 0,15 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d από 25/01/2021 έως 25/04/2021. Οι λειτουργικές και περιβαλλοντικές παράμετροι του συστήματος παρέμειναν στεθερές, εκτός από την αμμωνιακή, οργανική φόρτιση και τη συγκέντρωση των MLSS και MLVSS. Το χρονικό διάστημα 25/01/2021-28/02/2021, η σύσταση της τροφής ήταν ίδια με αυτή της πρώτης περιόδου, προσθέτοντας τη κατάλληλη ποσότητα στραγγιδίων αφυδάτωσης και διαλύματος χλωριούχου αμμωνίου ανάλογα με τη φόρτιση της αμμωνίας που θέλαμε να πετύχουμε (0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d). Η ποσότητα φωσφόρου παρέμεινε σταθερή στα 0,5 g/d και εισερχόταν απευθέιας στο ανάμεικτο υγρό πριν την αρχή της αναερόβιας φάσης. Η ποσότητα του προπιονικού οξέος στο διάλυμα της τροφής παρέμεινε στα 8,5 g COD/d.

Στις 28/02/2021, τα στραγγίδια αφυδάτωσης από τη συμβατική γραμμή επεξεργασίας της ιλύος αντικαταστάθηκαν με στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή της υδρόλυσης, λόγω κάποιου προβλήματος στο σημείο συλλογής των πρώτων στην ΕΕΛ της Ψυττάλειας. Η αλλαγή αυτή στη σύσταση της τροφής του SBR

οδήγησε σταδιακά στην αδυναμία της ιλύος να καθιζάνει. Έτσι, η φάση καθίζησης ξεπερνούσε τις 2 ώρες στις 10/03/2021 και επομένως η αφαίρεση της εκροής ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί. Οι λόγοι που μπορεί να οδήγησαν στα προβλήματα καθιζησιμότητας της ιλύος θα σχολιαστούν παρακάτω.

Παράμετρος	Συμβολισμός	Τιμή	Μονάδες
Παροχή λυμάτων	Q	5	L/d
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	HRT	2	d
Αμμωνιακή φόρτιση	A/M	0,155	g NH₄/m³-d
Χρόνος παραμονής στερεών	SRT	10	d
Οργανική φόρτιση	F/M	0,2-0,3	g COD/g MLVSS-d
Ολικά αιωρούμενα στερεά	MLSS	3,3-6,4	g/L
Αιωρούμενα πτητικά στερεά	MLVSS	2,7-4,4	g/L
Περίσσεια ιλύς	W	0,5-0,8	L/d

Πίνακας 5.4 Λειτουργικά χαρακτηριστικά 2ης περιόδου λειτουργίας του SBR

Η εβδομαδιαία παρακολούθηση του συστήματος πραγματοποιήθηκε με τον ίδιο τρόπο που έχει περιγραφεί αναλυτικά στην ενότητα 4.3, έτσι ώστε να διερευνηθεί η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά την ταυτόχρονη απομάκρυνση του υψηλού εισερχόμενου φορτίου αμμωνιακού αζώτου μέσω νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης στον αντιδραστήρα SBR.

Η αύξηση της εισερχόμενης αμμωνιακής φόρτισης στα 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d ευνόησε τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης, καθώς τα AOB συνέχισαν να επικρατούν έναντι των NOB. Η υπολειμματική συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του SBR παρέμεινε στα 10±5 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/L, έτσι ώστε η συγκέντρωση της FA σε συνδυασμό με τις υπόλοιπες λειτουργικές παραμέτρους (SRT, HRT) να αναχαιτίζουν τα NOB. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μία μικρή μείωση του pH της εκροής στο 7,8 τις πρώτες τρεις μέρες αλλαγής του εισερχόμενου φορτίου αμμωνίας (Σχήμα 5.8).

Στις 27/01/2021, η μεταβολή αυτή του pH επιβεβαιώθηκε από την παρακολούθηση του πρώτου κύκλου λειτουργίας του συστήματος. Η τιμή του pH ήταν ίση με 7,2 στην αρχή της αναερόβιας φάσης και μεταξύ 7,26-7,67 κατά τη διάρκεια της πρώτης ώρας αερισμού, υποδεικνύοντας την έντονη νιτρωδοποίηση η οποία διατήρησε σχετικά χαμηλό το pH. Την ίδια μέρα, η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στην αρχή της αερόβιας φάσης παρουσίασε μία μικρή αύξηση στα 30 mg NH<sub>4</sub>-N/L, σε σχέση με την προηγούμενη περίοδο λειτουργίας. Η συγκέντρωση των νιτρωδών ήταν ίση με 25,5 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης. Επομένως, η αύξηση του νιτρώδους αζώτου σε συνδυασμό με το σχετικά χαμηλό pH οδήγησαν στην παρουσία του FNA σε συγκέντρωση ίση με 0,55x10<sup>-3</sup> (10 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L) και 1x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L (16,9 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L) στη 0,5 και 1 ώρα αερόβιας φάσης, αντίστοιχα (Πίνακας 5.5, Σχήμα 5.7). Η ποσότητα αυτή του ελεύθερου νιτρώδους οξέος επέφερε σημαντικό βαθμό αναχαίτισης (75,7%) στον PURaer, ο οποίος μειώθηκε από 23,94 σε 5 mg P/g VSS/h.

Η Θέμελη Ε., 2019 κατέγραψε 40% αναχαίτιση του αερόβιου PUR σε συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους αζώτου ίση με 1,12x10<sup>-3</sup> mg FNA/L, χρησιμοποιώντας καλλιέργεια πολυφωσφορικών βακτηρίων εγκλιματισμένη σε συγκέντρωση 0,71x10<sup>-3</sup> mg FNA/L. Επίσης, οι Pijuan et al., 2010 παρατήρησαν σχεδόν ίδια αναχαίτιση σε μία εγκλιματισμένη και σε μία μη εγκλιματισμένη βιομάζα πολυφωσφορικών βακτηρίων στο νιτρώδες άζωτο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των batch πειραμάτων τους, ο αερόβιος PUR αναχαιτίστηκε σε ποσοστό 50% και 100% στα 0,52x10<sup>-3</sup> και 4x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 7, αντίστοιχα. Οι Saito et al., 2004 παρατήρησαν ότι η αερόβια δέσμευση φωσφόρου από τα PAOs αναχαιτίζεται σε ποσοστό 90% και 97,5% σε συγκέντρωση 0,5x10<sup>-3</sup> και 1,5x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L, αντίστοιχα, για pH ίσο με 7 και θερμοκρασία 21°C, χρησιμοποιώντας μη εγκλιματισμένη βιομάζα στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου.

Την ίδια μέρα (27/01/2020), η παρουσία 0,4x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης φαίνεται να επηρέασε τον ανοξικό μεταβολισμό των PAOs, διότι οι συγκεντρώσεις των ορθοφωσφορικών και νιτρωδών ήταν ίσες με 11,22 mg PO<sub>4</sub>-P/L και 13,1 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L, αντίστοιχα στη 1,5 ώρα ανοξικής φάσης. Ο αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του ανοξικού ρυθμού απομάκρυνσης φωσφόρου (PURanox) είναι περίπου ίσος με 25% παρουσία της παραπάνω συγκέντρωσης ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Η Κούκουρα Α., 2020, κατέγραψε 28% αναχαίτιση του PURanox σε συγκέντρωση FNA ίση με 0,64x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 8.

Time (hr)	рН	FNA (mg/L)
0,5	7,67	0,55886 x10 <sup>-3</sup>
1	7,64	1,00659x10 <sup>-3</sup>
1,5	7,93	0,76061x10 <sup>-3</sup>
2	8,21	0,40879x10 <sup>-3</sup>

Πίνακας 5.5 Συγκεντρώσεις FNA: Παρακολούθηση συστήματος 27/01/2021





Τις επόμενες μέρες το pH του συστήματος αποκαταστάθηκε (Σχήμα 5.8). Η ρύθμιση του pH εντός του εύρους 7,5-8,2 πραγματοποιούνταν με την προσθήκη θειικού οξέος ή καυστικού νατρίου τις ημέρες που παρουσίαζε απότομη μεταβολή. Το σύστημα συνέχισε να απομακρύνει την εισερχόμενη συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου, καθώς δεν παρατηρήθηκε συσσώρευση αυτής στην εκροή του SBR. Επίσης, τα PAOs κατάφεραν σταδιακά να ανακάμψουν, έπειτα από την αποκατάσταση της τιμής του pH και επομένως τη μείωση της συγκέντρωσης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος, καθώς ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου ήταν ίσος με 9,1 mg P/g VSS/h και 16,5 mg P/g VSS/h στις 10/02/2021 και 4/03/2021, αντίστοιχα (Σχήμα 5.9). Όπως είδαμε και κατά την 1<sup>n</sup> περίοδο λειτουργίας, το FNA αποτελεί τον κύριο αναχαιτιστικό παράγοντα όταν βρίσκεται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 0,1χ 10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης. Η αποκατάσταση του PURaer εντός 13 ημερών οφείλεται στον εγκλιματισμό των PAOs στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ελεύθερου νιτρώδους οξέος που παρατηρήθηκαν κατά την αερόβια φάση τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο λειτουργίας του SBR. Ωστόσο, οι τιμές του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου είναι αισθητά πιο χαμηλές από αυτές της 1<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του συστήματος. Ο μέσος PURaer είναι ίσος με 10,2 mg P/g VSS/h κατά τη 2<sup>η</sup> περίοδο λειτουργίας του συστήματος σε αντίθεση με την 1<sup>η</sup> που ήταν περίπου ίσος με 20 mg P/g VSS/h. Επίσης, ο ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου μειώθηκε κατά 50% με την αύξηση του εισερχόμενου φορτίου αζώτου στα 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d.



Σχήμα 5.8 .Μεταβολή των τιμών του pH στην εκροή του SBR σε σχέση με το χρόνο.



Σχήμα 5.9 Μεταβολή του PURaer σε σχέση με τις τιμές του pH στην εκροή του SBR.

Η διαδικασία της νιτρωδοποίησης φαίνεται να υποβαθμίστηκε με την αντικατάσταση των στραγγιδίων αφυδάτωσης από τη συμβατική γραμμή επεξεργασίας της ιλύος με αυτά από τη γραμμή της υδρόλυσης στις 28/02/2021. Στις 2/3/2021, η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του SBR αυξήθηκε περίπου στα 35 mg NH<sub>4</sub>-N/L.

Στις 3/3/2021, το σύστημα παρουσίασε προβλήματα καθιζησιμότητας της ιλύος. Την ίδια μέρα καταγράφηκε ραγδαία αύξηση του αμμωνιακού αζώτου (95 mg NH<sub>4</sub>-N/L) στην εκροή του SBR. Επομένως, η συσσώρευση της αμμωνίας στο ανάμεικτο υγρό πιθανώς να προκάλεσε την υποβάθμιση της φάσης καθίζησης. Τις επόμενες μέρες αποκαταστάθηκε η διαδικασία της νιτρωδοποίησης, αλλά φαίνεται ότι ο μεταβολισμός των νιτρωδοποιητικών βακτηρίων επηρεάστηκε από την αλλαγή της προέλευσης των στραγγιδίων, καθώς η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου συνέχιζε να είναι μεγαλύτερη των 20 mg NH<sub>4</sub>-N/L στην εκροή του αντιδραστήρα. Σύμφωνα με τους Wang et al., 2020, οι οργανικές ενώσεις που βρίσκονται στα στραγγίδια αφυδάτωσης μπορεί να αναχαιτίσουν τις μεταβολικές διεργασίες των νιτροποιητικών βακτηρίων, καθώς αποτελούνται από βιοαποικοδομήσιμα πτητικά λιπαρά οξέα, χουμικές, σωματιδιακές οργανικές ενώσεις, πρωτεΐνες υψηλούς μοριακού βάρους, τοξικές ουσίες (φαινόλες). Επίσης, η αναχαίτιση των νιτροποιητικών βακτηρίων μπορεί να οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση διαλυτού ευκολοδιασπάσιμου COD (Wang et al., 2020) που μπορεί να περιέχεται στα στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή της υδρόλυσης. Τα τυπικά ετεροτροφικά βακτήρια επικρατούν έναντι των αυτότροφων νιτροποιητών σε συνθήκες περίσσειας ποσότητας οργανικής τροφής με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της διαδικασίας της νιτροποίησης.

#### 5.2.3.1 Αστοχία συστήματος

Η σταδιακή υποβάθμιση της φάσης καθίζησης οδήγησε στην αδυναμία αφαίρεσης της εκροής εντός των προβλεπόμενων 2 ωρών στο τέλος των ημερήσιων κύκλων λειτουργίας του συστήματος στις 10/3/2021. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα στραγγίδια από τη γραμμή της υδρόλυσης πιθανώς να περιέχουν υψηλή συγκέντρωση ευκολοδιασπάσιμου COD με αποτέλεσμα οι μικροοργανισμοί να μην έχουν την ανάγκη να σχηματίσουν τις απαραίτητες βιοκροκίδες. Επίσης, η συσσώρευση των θρεπτικών (Ν, Ρ, C) ευνοεί την ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών με αποτέλεσμα την αύξηση του δείκτη όγκου ιλύος. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, στις 3/3/2021 παρουσιάστηκε συσσώρευση αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του SBR η οποία μπορεί να ευνόησε την ανάπτυξη των νηματοειδών. Επίσης, στις 7/3/2021, παρατηρήθηκαν κομμάτια ιλύος στην επιφάνεια του SBR. Η συγκέντρωση των νιτρικών στην εκροή ήταν ίση με 8,66 mg NO<sub>3</sub>-N/L, υποδεικνύοντας την ανεπαρκή απονιτρωδοποίηση κατά την ανοξική φάση. Η δημιουργία ανοξικών συνθηκών στον πυθμένα του SBR κατά τη διάρκεια της φάσης καθίζησης οδήγησε στη μετατροπή των νιτρικών σε νιτρώδη και επομένως στην άνοδο της ιλύος. Η ποσότητα του προπιονικού οξέος αυξήθηκε από τα 8,5 στα 9 g COD/d, έτσι ώστε να αποφευχθεί η παρουσία των NOx-N στην αρχή της αναερόβιας φάσης. Η συγκέντρωση των νιτρικών/νιτρωδών στην εκροή του SBR ήταν αμελητέα μετά από 2 ημέρες. Η ποσότητα της οργανικής τροφής μειώθηκε πάλι στα 8,5 g COD/d, καθώς δεν παρατηρήθηκε ξανά συσσώρευση των προϊόντων της νιτρωδοποίησης στην εκροή του συστήματος. Ωστόσο, η καθιζησιμότητα της ιλύος δεν αποκαταστάθηκε.

Στις 15/03/2021, τα στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή της υδρόλυσης αντικαταστάθηκαν με συνθετικά λύματα, προκειμένου να αποκατασταθεί η φάση καθίζησης του συστήματος. Το επόμενο χρονικό διάστημα λειτουργίας του αντιδραστήρα, η φάση καθίζησης παρουσίασε μία μικρή βελτίωση. Ωστόσο, η αφαίρεση της εκροής δεν ήταν δυνατό να πραγματοποιηθεί εντός των 2 ωρών. Για διάστημα 10 ημερών (21-31 Μαρτίου 2021) η αφαίρεση της εκροής πραγματοποιούνταν μετά τις 2 ώρες καθίζησης και αφού είχε χαθεί η 1 ώρα αναερόβιας φάσης του πρώτου κύκλου λειτουργίας. Την ίδια χρονική περίοδο, το pH της εκροής παρουσίασε απότομη πτώση στο 7,4-7,7 με αποτέλεσμα να μειωθεί στο 6,6 στην αρχή της αναερόβιας φάσης του συστήματος (Σχήμα 5.10). Η ρύθμιση του pH δε γινόταν αυτοματοποιημένα οπότε η διατήρηση των τιμών του εντός του εύρους 7,5-8,2 ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί καθ'όλη τη διάρκεια των ημερήσιων κύκλων λειτουργίας του SBR. Η συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου στην εκροή του SBR παρέμεινε μεγαλύτερη από 15 mg NH<sub>4</sub>-N/L.



Σχήμα 5.10 Μεταβολή του pH σε σχέση με το χρόνο στην εκροή του SBR (για το διάστημα που ήταν εφικτή η αφαίρεση αυτής από 21 έως 31 Μαρτίου 2021) και στην αρχή της αναερόβιας φάσης.

Η έντονη νιτρωδοποίηση και επομένως η παραγωγή ιόντων υδρογόνου κατά τη μετατροπή του αμμωνιακού αζώτου (28,7 mg NH<sub>4</sub>-N/L) σε νιτρώδη δεν επέτρεψε την αύξηση της τιμής του pH πάνω από 6,5 στην αρχή της αερόβιας φάσης (Kim et al., 2008). Έτσι, ο αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs υποβαθμίστηκε, καθώς τα GAOs αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των PAOs σε pH μικρότερο του 7,25 (Filipe et al., 2001a). Επίσης, το χαμηλό pH σε συνδυασμό με την υψηλή συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου, λόγω της διαδικασίας της νιτρωδοποίησης οδήγησαν στην έκθεση των PAOs σε συνθήκες υψηλής τοξικότητας.

Στις 23/03/2021, διαπιστώθηκε η πλήρης αναχαίτιση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs μέσω πειράματος batch για τον έλεγχο της κατάστασης της βιομάζας. Το χρονικό διάστημα αστοχίας της EBPR πραγματοποιήθηκαν κυρίως πειράματα batch για να διερευνηθεί η αποκατάσταση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs, έπειτα από τη μακροχρόνια έκθεσή τους στο ελεύθερο νιτρώδες οξύ.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της in-situ παρακολούθησης του συστήματος στις 5/4/2021, διαπιστώθηκε η πλήρης αναχαίτιση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs. Ο μεταβολισμός των νιτρωδοποιητικών βακτηρίων δεν επηρεάστηκε από τις χαμηλές τιμές του pH με αποτέλεσμα η συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου να παραμένει υψηλή στο ανάμεικτο υγρό. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση νιτρωδών ήταν ίση με 10,45 mg NO2<sup>-</sup>-N/L σε pH ίσο με 6,5 στο τέλος της αερόβιας φάσης. Η κύρια διεργασία που πραγματοποιούνταν ήταν η νιτρωδοποίηση κατά τη διάρκεια του αερισμού με αποτέλεσμα η τιμή του pH va παραμένει χαμηλή. Επομένως, τα PAOs ήταν εκτεθειμένα σε συγκέντρωση FNA ίση με  $8,15x10^{-3}$  mg HNO<sub>2</sub>-N/L η οποία αναμένεται να αναχαιτίσει τον αερόβιο ρυθμό δέσμευσης φωσφόρου κατά 80% (Πίνακας 5.6 και Σχήμα 5.11). Ο Φραγκισκάτος Γ., 2018 παρατήρησε βαθμό αναχαίτισης του PURaer ίσο με 79% στα 6,11x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με7, χρησιμοποιώντας βιομάζα μη εγκλιματισμένη στο FNA. Επίσης, οι Pijuan et al., 2010 και Saito et al., 2004 παρατήρησαν ότι η αερόβια δέσμευση φωσφόρου από τα PAOs αναχαιτίστηκε σε ποσοστό 100% υπό τη παρουσία  $4x10^{-3}$  mg FNA/L και  $1,5x10^{-3}$  mg HNO2-N/L, χρησιμοποιώντας μία εγκλιματισμένη και μία μη εγκλιματισμένη βιομάζα στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου, αντίστοιχα. Τέλος, η μετέπειτα απονιτροποίηση δε κατάφερε να αυξήσει την τιμή του pH πάνω από 6,5 με αποτέλεσμα να παραμένει μικρότερο του 7,25 στην αρχή της αναερόβιας φάσης του επόμενου κύκλου λειτουργίας του SBR.

Η χρήση των στραγγιδίων αφυδάτωσης από τη γραμμή της υδρόλυσης (8/04/2021) και η επαναφορά των τιμών του pH εντός του εύρους 7,5-8,2 με την προσθήκη αλκαλικότητας στο διάλυμα της τροφής του SBR δεν βοήθησαν τα PAOs να ανακάμψουν, έπειτα από τη μακροχρόνια έκθεσή τους στις υψηλές συγκεντρώσεις ελεύθερου νιτρώδους αζώτου.

Time (hr)	рН	FNA (mg/L)
0,5	6,59	1,83165x10 <sup>-3</sup>
1	6,55	4,5986x10 <sup>-3</sup>
1,5	6,52	8,22292x10 <sup>-3</sup>
2	6,5	8,14498x10 <sup>-3</sup>

Πίνακας 5.6 Συγκεντρώσεις FNA: Παρακολούθηση συστήματος 5/04/2021





# 5.2.4 Αερόβιος και ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο προσδιορισμός του ανοξικού ρυθμού απομάκρυνσης φωσφόρου (PURanox) δεν ήταν δυνατό να πραγματοποιηθεί στα πλαίσια της in-situ παρακολούθησης του συστήματος, καθώς οι συγκεντρώσεις των ορθοφωσφορικών ήταν αμελητέες, έπειτα από την αερόβια δέσμευση φωσφόρου από τα PAOs. Έτσι, ο ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου μελετήθηκε μέσω των Control πειραμάτων batch στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας "Επίδραση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηρίων" την οποία εκπόνησε η συμφοιτήτριά μου Βέρα Χαραλάμπους, χρησιμοποιώντας βιομάζα από τον αντιδραστήρα SBR ο οποίος έχει περιγραφεί στην παρούσα διπλωματική εργασία.

Στο παρακάτω διάγραμμα (Σχήμα 5.12) φαίνεται ο αερόβιος και ο ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου σε σχέση με το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου κατά τη διάρκεια της  $1^{nc}$  και  $2^{nc}$  περιόδου λειτουργίας του συστήματος. Αυτό που παρατηρούμε είναι ότι ο αερόβιος ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου, όπως είναι και λογικό, λόγω του αποδέκτη ηλεκτρονίων που είναι το οξυγόνο, είναι αρκετά μεγαλύτερος από τον ανοξικό στις διάφορες εισερχόμενες αμμωνιακές φορτίσεις. Ο μέσος αερόβιος και ανοξικός PUR είναι ίσοι περίπου με 18-20 και 8-10 mg P/g VSS/h, αντίστοιχα, κατά τη  $1^n$  περίοδο λειτουργίας του SBR. Τη  $2^n$  περίοδο λειτουργίας του συστήματος τόσο ο αερόβιος όσο και ο ανοξικός ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου μειώνονται περίπου κατά 50% για εισερχόμενη αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Συγκεκριμένα, προκύπτει ότι ο PURanox αντιστοιχεί περίπου στο 35-40% του PURaer καθ΄όλη τη διάρκεια λειτουργίας του SBR. Οι Oehmen et al., 2007 ανέφεραν ότι η ενέργεια που παράγεται κατά τον ανοξικό αναβολισμό των DPAOs, χρησιμοποιώντας τα νιτρικά ως αποδέκτη ηλεκτρονίων είναι υπό αερόβιες συνθήκες.

Ο συνδυασμός της αερόβιας και ανοξικής δέσμευσης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια μειώνει το ενεργειακό κόστος ενός συστήματος ενεργού ιλύος, καθώς μειώνεται η κατανάλωση ενέργειας για αερισμό. Επίσης, η ικανότητα των PAOs να αποθηκεύουν την οργανική τροφή με τη μορφή PHAs στο εσωτερικό του κυττάρου τους οδηγεί στην εξοικονόμηση της κατανάλωσης εξωτερικής πηγής άνθρακα υπό αερόβιες/ανοξικές συνθήκες.



Σχήμα 5.12 Αερόβιος και ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου σε σχέση με την εισερχόμενη φόρτιση αμμωνιακού αζώτου κατά τη διάρκεια της 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του SBR.

### 5.3 Αποτελέσματα πειραμάτων

Στην παρούσα ενότητα, γίνεται αναλυτική περιγραφή ενός πειράματος batch από τα εννέα που πραγματοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του βαθμού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου υπό τη συνδυασμένη επίδραση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA) και της ελεύθερης αμμωνίας (FA) στις διάφορες συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου για τις διαφορετικές τιμές του pH. Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα όλων των πειραμάτων batch παρουσιάζονται μέσω πινάκων και σχολιάζονται.

# 5.3.1 Προσδιορισμός του πειραματικού βαθμού αναχαίτισης του PURaer υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA (Batch 10/12/2020)

Όλα τα πειράματα batch πραγματοποιήθηκαν με βάση τη μεθοδολογία που περιγράφηκε αναλυτικά στην ενότητα 4.4.2. Οι μέσες συγκεντρώσεις νιτρώδους και αμμωνιακού αζώτου ήταν ίσες με 26,6 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L και 237,3 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/L στο δοχείο A, B. Το δοχείο Γ περιείχε 26,6 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L και 238 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/L. Η μέση θερμοκρασία ήταν ίση με 18±0,5°C στο κάθε δοχείο. Το δοχείο C ήταν το πείραμα αναφοράς, έτσι ώστε να προσδιοριστεί ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου
από τα PAOs απουσία αναχαιτιστικών ουσιών (FNA, FA). Οι πειραματικοί βαθμοί αναχαίτισης του PURaer υπό τη ξεχωριστή και συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA θα υπολογιστούν με βάση το PURaer του πειράματος αναφοράς. Σε όλα τα δοχεία προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα διαλύματος θειουρίας για την αναχαίτιση της νιτροποίησης, έτσι ώστε η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου και των νιτρωδών να παραμένει σταθερή. Το pH του συγκεκριμένου πειράματος διατηρήθηκε στο 7,5±0,05.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης φωσφόρου σε σχέση με το χρόνο στα 4 δοχεία (C, A, B, Γ) υπό αερόβιες συνθήκες.





Στα δοχεία Α, Β και Γ φαίνεται ότι τα PAOs προσπαθούν να εγκλιματιστούν στις διάφορες λειτουργικές, περιβαλλοντικές, φυσικοχημικές παραμέτρους, ανάλογα με τις ανάγκες του κάθε πειράματος κατά τη διάρκεια της 1<sup>ης</sup>, 1,5<sup>ης</sup> ώρας της αερόβιας φάσης, Η αερόβια δέσμευση φωσφόρου πραγματοποιείται με σχετικά σταθερό ρυθμό, έπειτα από την προσαρμογή των PAOs και απεικονίζεται από το γραμμικό τμήμα των παραπάνω καμπυλών για το κάθε δοχείο, αντίστοιχα. Στο τέλος του αερισμού, δηλαδή μετά τις 2-2,5 ώρες, η μείωση της συγκέντρωσης ορθοφωσφορικών είναι αμελητέα, λόγω του κορεσμού των πολυφωσφορικών βακτηρίων ως προς τη δυνατότητά τους να προσλαμβάνουν φώσφορο. Ο PURaer υπολογίζεται από το λόγο της κλίσης της εξίσωσης της γραμμής τάσης και της συγκέντρωσης των πτητικών αιωρούμενων στερεών (MLVSS) στο ανάμεικτο υγρό. Οι εξισώσεις των γραμμών τάσεων για τη κάθε καμπύλη του Σχήματος 5.13 παρουσιάζονται στο παρακάτω διάγραμμα:



Σχήμα 5.14 Γραμμική μεταβολή της συγκέντρωσης φωσφόρου στο κάθε δοχείο, Batch: 10/12/2020.

	(	C			Г		
	mg NO2-N/L	mg NH4-N/L	A (mg NO2-N/L)	B(mg NH4-N/L)	mg NO2-N/L	mg NH4-N/L	
Αρχή αερόβιας (0)	0,35	13,62	31,6	255,2	30	251,13	
0,5 h							
1 h	0,65		24		26,2		
1,5 h				238,04		234,56	
2 h	0,95		24,2		23,6		
2,5 h							
3 h				218,62		230,66	
3,5 h							

Πίνακας 5.7 Συγκεντρώσεις NO2-N και NH4-N: Batch 10/12/2020

Ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου, απουσία αναχαιτιστικών ουσιών, υπολογίστηκε από το πείραμα Control. Ο PURaer προσδιορίστηκε κατά την ξεχωριστή επίδραση του FNA και της FA στα δοχεία A και B, αντίστοιχα. Επίσης, ο αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου υπολογίστηκε υπό τη συνδυασμένη επίδραση του FNA και της FA στο δοχείο Γ.

 $PUR_{C} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{47,69}{2,48} = 19,23 \text{ mg P/g VSS-hr}$ 

$$PUR_{A} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{9,15}{2,48} = 3,7 \text{ mg P/g VSS-hr}$$

$$PUR_{B} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{30,9}{2,48} = 12,46 \text{ mg P/g VSS-hr}$$

$$PUR_{\Gamma} = \frac{dPO4 - P}{dt} \frac{1}{MLVSS} = \frac{5,68}{2,4} = 2,41 \text{ mg P/g VSS-hr}$$

Ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer υπό την ξεχωριστή και τη συνδυασμένη επίδραση των αναχαιτιστικών ουσιών προκύπτει από την απόκλιση μεταξύ του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου στο Control και των δοχείων Α, Β, Γ. Επομένως, οι πειραματικοί βαθμοί αναχαίτισης του PURaer με βάση τα παραπάνω είναι:

$$% lnh_{FNA} = \frac{PUR_{C} - PUR_{A}}{PUR_{C}} = \frac{20,64 - 3,9}{20,64} \times 100 = 81$$
  
% lnh\_{FA} =  $\frac{PUR_{C} - PUR_{B}}{PUR_{C}} = \frac{20,64 - 12,73}{20,64} \times 100 = 35$   
% lnh\_{FNA+FA} =  $\frac{PUR_{C} - PUR_{B}}{PUR_{C}} = \frac{20,64 - 2,41}{20,64} \times 100 = 87$ 

Η συγκέντρωση FNA στο δοχείο Α και Γ υπολογίστηκε με βάση τον παρακάτω τύπο για τη μέση συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου, τη μέση θερμοκρασία και για pH ίσο με 7,5 κατά την αερόβια φάση:

$$\mathsf{FNA} = \frac{NO_2 - N\left(\frac{mg}{L}\right)}{e^{-2300/(273+T)} \times 10^{pH}} = \frac{26,6}{e^{-2300/(273+18,5)} \times 10^{7,5}} = 2,24 \times 10^{-3} \text{ mg HNO}_2 - \text{N/L}$$

Η συγκέντρωση της FA στο δοχείο B και Γ υπολογίστηκε με βάση τον παρακάτω τύπο για τη μέση συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου, τη μέση θερμοκρασία και για pH ίσο με 7,5 κατά την αερόβια φάση:

 $\mathsf{FA} = \frac{NH_4 - N\left(\frac{mg}{L}\right) \times 10^{pH}}{e^{6344/(273+T)} + 10^{pH}} = \frac{238 \times 10^{7,5}}{e^{6344/(273+18,4)} + 10^{7,5}} = 2,62 \times 10^{-3} \text{ mg NH}_3 - \text{N/L}$ 

Η ίδια μεθοδολογία εφαρμόστηκε για τον υπολογισμό των πειραματικών βαθμών αναχαίτισης του αερόβιου PUR και στις τρείς σειρές πειραμάτων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου για τις διαφορετικές τιμές του pH (7,5, 8 και 8,5).

## 5.4 Περιγραφή και ανάλυση αποτελεσμάτων των πειραμάτων batch

Οι αναμενόμενοι βαθμοί αναχαίτισης του PURaer υπό τη ξεχωριστή παρουσία της FA και του FNA υπολογίστηκαν με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch προηγούμενων διπλωματικών εργασιών στις διάφορες συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου για τις διαφορετικές τιμές του pH (Φραγκισκάτος Γ., 2018, Θέμελη Ε., 2019, Μισυρλή Θ., 2018). Ο αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του PURaer υπό τη συνδυασμένη παρουσία της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος υπολογίζεται πολλαπλασιαστικά με βάση τα αναμενόμενα ποσοστά αναχαίτισης στα δοχεία Α (FNA) και B (FA). Το ίδιο ισχύει και για τον αναμενόμενο βαθμό αναχαίτισης που προκύπτει με βάση τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης του PURaer που καταγράφηκαν στα δοχεία Α και B. Σύμφωνα με τους Φραγκισκάτος Γ., 2018, Θέμελη Ε., 2019, Καλλή Μ., 2019, Μισυρλή Θ., 2018, ο PURmax αναχαιτίζεται κατά 50% σε συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος ίση με 1,5x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L. Η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας που αναχαιτίζει τον PURmax κατά 50% είναι ίση με 6,4 mg NH<sub>3</sub>-N/L (Καλλή Μ., 2019, Μισυρλή Θ., 2018).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα οποία παρουσιάστηκαν αναλυτικά στην υποενότητα 5.3.1, του πειράματος batch στις 10/12/2020, η αναχαίτιση του PURaer κατά 87% υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA είναι η αναμενόμενη, η οποία προκύπτει πολλαπλασιαστικά, με βάση τα ποσοστά αναχαίτισης στα δοχεία A (%Inh<sub>FNA</sub>=81%) και B (%Inh<sub>FA</sub>=35%) υπό τη ξεχωριστή παρουσία της FA και του FNA. Ωστόσο, η παρουσία του FNA σε συγκέντρωση ίση με 2,24 mg HNO<sub>2</sub>-N/L και για pH ίσο με 7,5 αναχαίτισε τον PURaer σε αρκετά μεγαλύτερο βαθμό (%InhfNa=81%) από τον αναμενόμενο (%InhfNa=59%). Συγκεκριμένα, η Θέμελη Ε., 2019 παρατήρησε 62% αναχαίτιση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου σε συγκέντρωση FNA ίση με  $2,7x10^{-3}$  mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 8 μέσω πειραμάτων batch, χρησιμοποιώντας βιομάζα εγκλιματισμένη σε συγκέντρωση FNA ίση με 0,7x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L. Η μείωση του PURaer από 20,64 mg P/g VSS/hr (πείραμα control) σε 3,9 mg P/g VSS/hr (δοχείο Α) πιθανώς οφείλεται στην έλλειψη εγκλιματισμού της βιομάζας στο FNA. Ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer (%Inh<sub>FA</sub>=35%) δεν παρουσίασε μεγάλη απόκλιση από το θεωρητικό (%Inh<sub>FA</sub>=31%) υπό τη παρουσία της FA σε συγκέντρωση ίση με 2,62 g NH<sub>3</sub>-N/L για pH ίσο με 7,5.

Στις 19/12/2020 παρατηρήθηκαν παρόμοια αποτελέσματα για pH ίσο με 8. Συγκεκριμένα, ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer κατά την ταυτόχρονη παρουσία της FA και του FNA στο δοχείο Γ ήταν ίσος με 89% και ήταν πολύ κοντά στον προβλεπόμενο (92%) σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα των δοχείων Α και Β. Ωστόσο, ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer ήταν ίσος με 86% σε αντίθεση με τον αναμενόμενο που ήταν ίσος με 45% σε συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος ίση με 1,21x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L (NO<sub>2</sub>- $N_{average}$ =45 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L). Συγκεκριμένα, η Θέμελη Ε., 2019 κατέγραψε περίπου 40% αναχαίτιση του αερόβιου ρυθμού και 51% δέσμευσης φωσφόρου, χρησιμοποιώντας εγκλιματισμένη βιομάζα στα 0,7x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L σε συγκέντρωση FNA ίση με  $1,12x10^{-3}$  και  $1,69x10^{-3}$  mg HNO<sub>2</sub>-N/L, αντίστοιχα, για pH ίσο με 8. Επίσης, ο Φραγκισκάτος Γ., 2018 παρατήρησε βαθμό αναχαίτισης του PURaer ίσο με 50% σε συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 50 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L (1,31x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) για pH ίσο με 8. Ο βαθμός αναχαίτισης του PURaer υπό την επίδραση της FA (%Inh<sub>FA</sub>=46%) ήταν σχεδόν ίσος με τον αναμενόμενο (%Inh<sub>FA</sub>=42%) σε συγκέντρωση 4,5 mg NH<sub>3</sub>-N/L (NH<sub>4</sub>-N<sub>average</sub>=135,42 mg NH<sub>3</sub>-N/L) για pH ίσο με 8.

Στις 10/01/2021, το πειραματικό ποσοστό αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου ήταν ίσο με 92% υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA (5,22 mg NH<sub>3</sub>-N/L) και του FNA (1,44x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) στο pH του 8. Ο αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης της αερόβιας ταχύτητας δέσμευσης φωσφόρου ήταν ίσος με 89% με βάση τα ποσοστά αναχαίτισης που προκύπτουν πολλαπλασιαστικά από τα δοχεία A και B. Όπως και στα προηγούμενα πειράματα στο pH του 8, ο PURaer παρουσίασε αρκετά μεγαλύτερο πειραματικό βαθμό αναχαίτισης (%Inh<sub>FNA</sub>=80%) από τον αναμενόμενο (%Inh<sub>FNA</sub>=50%) παρουσία ελεύθερου νιτρώδους οξέος σε συγκέντρωση 1,5x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L (NO<sub>2</sub>-N<sub>average</sub>=56,66 mg NO<sub>2</sub>-N/L) για pH ίσο με 8. Ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer (%Inh<sub>FA</sub>=46%) ήταν ίσος με τον προβλεπόμενο παρουσία της FA σε συγκέντρωση 5,3 mg NH<sub>3</sub>-N/L (NH<sub>4</sub>-N<sub>average</sub>= 149,65 mg NH<sub>4</sub>-N/L) για pH ίσο με 8.

Στις 12/11/2020, ο βαθμός αναχαίτισης του PURaer που καταγράφηκε στο δοχείο Γ (FA και FNA) ήταν ίσος με τον προβλεπόμενο σε ποσοστό 87% ο οποίος προκύπτει πολλαπλασιαστικά με βαση τα ποσοστά αναχαίτισης στα δοχεία A (%Inh<sub>FNA</sub>=72%) και B (%Inh<sub>FA</sub>=55%). Οι συγκεντρώσεις του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας ήταν ίσες με 7,85 mg NH<sub>3</sub>-N/L και 0,46x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L, αντίστοιχα, για pH ίσο με 8 στο δοχείο Γ. Ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer στο δοχείο A (%Inh<sub>FNA</sub>=70%) ήταν αρκετά μεγαλύτερος από τον αναμενόμενο (%Inh<sub>FNA</sub>=22%) σε συγκέντρωση FNA ίση με 0,44x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 8. Το πειραματικό ποσοστό (%Inh<sub>FA</sub>=55%) αναχαίτισης του PURaer ήταν σχεδόν ίσο με το αναμενόμενο (%Inh<sub>FA</sub>=51) υπό την επίδραση της FA σε συγκέντρωση ίση με 6,64 mg NH<sub>3</sub>-N/L για pH ίσο με 8. Η Καλλή M., 2019, παρατήρησε 52% αναχαίτιση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου σε συγκέντρωση FA ίση με 7,7 mg NH<sub>3</sub>-N/L.

Στις 20/11/2020, ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης (%Inh<sub>FNA+FA</sub>=95%) του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου κατά την ταυτόχρονη παρουσία των

συγκεντρώσεων της FA (9,5 mg NH3-N/L) και του FNA (0,61x10-3 mg HNO2-N/L) ήταν σχεδόν ίσος με τον προβλεπόμενο (%Inh<sub>FNA+FA</sub>=98%) με βάση τα ποσοστά αναχαίτισης στα δοχεία A (%InhFNA=83%) και B (%InhFA=91%). Ωστόσο, τα ποσοστά αυτά αναχαίτισης του PURaer υπό τη ξεχωριστή παρουσία του FNA και της FA ήταν αρκετά μεγαλύτερα από τα αναμενόμενα (%Inh<sub>FNA</sub>=31%, %Inh<sub>FA</sub>=60%) σε μέσες συγκεντρώσεις νιτρώδους και αμμωνιακού αζώτου ίσες με 25,6 mg NO<sub>2</sub>-N/L και 271,5 mg NH<sub>4</sub>-N/L, αντίστοιχα, για pH ίσο με 8. Ο Φραγκισκάτος Γ., 2018 κατέγραψε 31% ποσοστό αναχαίτισης του PURaer σε συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου ίση με 25 mg NO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 8. Τα αρκετά μεγαλύτερα ποσοστά αναχαίτισης του PURaer υπό την παρουσία τόσο της FA όσο και του FNA πιθανώς να οφείλονται στην έλλειψη εγκλιματισμού της βιομάζας κατά το αρχικό στάδιο λειτουργίας του SBR.

Ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου δεν παρουσίασε μεγάλη διαφορά από τον προβλεπόμενο με βάση τα ποσοστά αναχαίτισης των δοχείων Α και Β στα πειράματα τα οποία πραγματοποιήθηκαν σε pH ίσο με 7,5. Στις 26/11/2020, το πειραματικό ποσοστό αναχαίτισης (68%) του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου ήταν το αναμενόμενο σύμφωνα με τα ποσοστά αναχαίτισης στα δοχεία Α (%Inh<sub>FNA</sub>=54%) και Β (%Inh<sub>FA</sub>=24%), αντίστοιχα. Ωστόσο, η επίδραση της FA σε συγκέντρωση ίση με 3,87 mg NH<sub>3</sub>-N/L στην αερόβια δέσμευση φωσφόρου από τα PAOs ήταν μικρότερη από την αναμενόμενη (%Inh<sub>FNA</sub>=39%). Ο βαθμός αναχαίτισης του PURaer που καταγράφηκε στο δοχείο Α (%Inh<sub>FNA</sub>=54%) ήταν αρκετά μεγαλύτερος από τον αναμενόμενο (%Inh<sub>FNA</sub>=40%) υπό τη παρουσία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος σε συγκέντρωση ίση με 0,98x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 7,5. Ωστόσο, η αναχαίτιση του PURaer κατά 40% είναι μικρότερη από αυτές που καταγράφηκαν στις 12/11/2020 και στις 20/11/2020 σε συγκεντρώσεις FNA ίσες με 0,44x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L και 0,66x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L, αντίστοιχα.

Στις 3/12/2020, ο βαθμός αναχαίτισης που καταγράφηκε (76%) κατά την ταυτόχρονη παρουσία της FA (7,82 mg NH<sub>3</sub>-N/L) και του FNA (1,41x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) ήταν σχεδόν ίσος με τον προβλεπόμενο (74%) με βάση τα ποσοστά αναχαίτισης του PURaer κατά τη ξεχωριστή παρουσία της FA (%Inh<sub>FA</sub>=42%) και του FNA (%Inh<sub>FNA</sub>=55%). Όπως και στις 26/11/2020, η παρουσία της FA σε συγκέντρωση

129

ίση με 7,88 mg NH<sub>3</sub>-N/L επηρέασε σε μικρότερο βαθμό από τον αναμενόμενο τον PURaer, καθώς το ποσοστό αναχαίτισης που καταγράφηκε ήταν ίσο με 42% σε αντίθεση με το προβλεπόμενο το οποίο ισούται με 54%. Η παρουσία του FNA σε συγκέντρωση ίση με 1,17x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L αναχαίτισε τον PURaer κατά 55% αρκετά παραπάνω από το αναμενόμενο ποσοστό αναχαίτισης (%Inh<sub>FNA</sub>=44%).

Στις 10/2/2021 και στις 4/3/2021 πραγματοποιήθηκαν πειράματα batch σε pH ίσο με 8,5. Συγκεκριμένα στις 10/2/2021, ο βαθμός αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου κατά τη συνδυασμένη επίδραση της FA (12,34 mg NH<sub>3</sub>-N/L) και του FNA (0,46x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) ήταν ίσος με 95% ο οποίος ήταν πολύ κοντά με τον αναμενόμενο (92%) που προκύπτει πολλαπλασιαστικά με βάση τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης του αερόβιου PUR στα δοχεία Α (%Inh<sub>FNA</sub>=64%) και B (%Inh<sub>FA</sub>=78%). Η παρουσία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος σε συγκέντρωση περίπου ίση με 0,5x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L αναχαίτισε σε αρκετά μεγαλύτερο βαθμό (%Inh<sub>FNA</sub>=64%) τον PURaer από τον αναμενόμενο (%Inh<sub>FNA</sub>=25%). Ωστόσο, το πειραματικό αυτό ποσοστό αναχαίτισης του PURaer ήταν μικρότερο από τα 70% και 83% που καταγράφηκαν στις 12/11/2020 και στις 20/11/2020, αντίστοιχα, για παρόμοιες συγκεντρώσεις FNA. Το γεγονός αυτό πιθανώς να οφείλεται στην έλλειψη εγκλιματισμού της βιομάζας κατά το αρχικό στάδιο λειτουργίας του SBR. Η ελεύθερη αμμωνία σε συγκέντρωση ίση με 10,68 mg NH<sub>3</sub>-N/L αναχαίτισε τον αερόβιο ρυθμό δέσμευσης φωσφόρου κατά 78% σε αντίθεση με το αναμενόμενο ποσοστό αναχαίτισης το οποίο ήταν ίσο με 61%.

Στις 4/3/2021, η ταυτόχρονη παρουσία της FA (12,5 mg NH<sub>3</sub>-N/L) και του FNA (0,61x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) αναχαίτισε πλήρως τον αερόβιο ρυθμό δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs. Σύμφωνα με τα ποσοστά αναχαίτισης που καταγράφηκαν στα δοχεία A (%Inh<sub>FNA</sub>=93%) και B (%Inh<sub>FA</sub>=81%), ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer είναι λογικό να φτάσει το 99% υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA. Επίσης, το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (0,63x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L) αναχαίτισε σε εξαιρετικά μεγαλύτερο βαθμό (%Inh<sub>FNA</sub>=93%) από τον αναμενόμενο (%Inh<sub>FNA</sub>=30%) τον αερόβιο ρυθμό προσληψης φωσφόρου από τα PAOs. Επίσης, το αναμενόμενο ποσοστό αναχαίτισης του PURaer ήταν ίσο με 62%, ενώ καταγράφηκε 81% αναχαίτιση στο δοχείο Β παρουσία της ελεύθερης αμμωνίας

σε συγκέντρωση ίση με 11,08 mg NH<sub>3</sub>-N/L για pH ίσο με 8,5. Ωστόσο, οι βαθμοί αναχαίτισης του PURaer κατά 78% και 81% στις 10/2/2021 και στις 4/3/2021, αντίστοιχα, είναι μικρότεροι από αυτόν που καταγράφηκε στις 20/11/2020 (%Inh<sub>FA</sub>=91%) για περίπου ίδια συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας. Επομένως, παρατηρούμε ότι ο εγκλιματισμός της βιομάζας παίζει καθοριστικό ρόλο στο βαθμό αναχαίτισης του PURaer υπό την επίδραση τόσο του FNA όσο και της FA.

## 5.4.1 Σύγκριση πειραματικών και αναμενόμενων βαθμών αναχαίτισης του PURaer

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA υπολογίζεται πολλαπλασιαστικά με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch προηγούμενων διπλωματικών εργασιών κατά την ξεχωριστή επίδραση της FA και του FNA στον PURaer (Φραγκισκάτος Γ., 2018, Θέμελη Ε., 2019, Μισυρλή Θ., 2018).

Σύμφωνα με τις τιμές του Πίνακα 5.8, φαίνεται ότι ο πειραματικός βαθμός αναχαίτισης που καταγράφηκε στο δοχείο Γ είναι μεγαλύτερος από τον αναμενόμενο, κυρίως στο pH του 8 και του 8,5. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο αρκετά μεγαλύτερο πειραματικό ποσοστό αναχαίτισης του PURaer παρουσία ελεύθερου νιτρώδους οξέος στο δοχείο Α σε σχέση με το αναμενόμενο (Πίνακας 5.9 και Πίνακας 5.13). Τα πειράματα τα οποία πραγματοποιήθηκαν σε pH ίσο με 7,5 παρουσίασαν μικρότερη απόκλιση μεταξύ του πειραματικού και προβλεπόμενου βαθμού αναχαίτισης υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA. Όπως παρατηρούμε στον Πίνακα 5.11, οι τιμές της πειραματικής και της αναμενόμενης αναχαίτισης του PURaer παρουσιάζουν μικρότερη διαφορά υπό τη παρουσία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στο pH του 7,5 σε σχέση με τις αντίστοιχες αναχαιτίσεις στο pH του 8 και του 8,5. Επομένως, η διαφορά που προκύπτει μεταξύ των πειραματικών και των αναμενόμενων βαθμών αναχαίτισης του PURaer υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA οφείλεται στο ότι το ελεύθερο νιτρώδες οξύ αναχαιτίζει σε μεγαλύτερο βαθμό τον αερόβιο ρυθμό δέσμευσης φωσφόρου στη παρούσα διπλωματική εργασία σε σχέση με τις προηγούμενες στις οποίες στηρίχθηκε ο υπολογισμός της αναμενόμενης αναχαίτισης στο δοχείο Γ.

131

Επίσης, παρατηρούμε ότι ο βαθμός αναχαίτισης του PURaer παρουσία της ελεύθερης αμμωνίας είναι αρκετά μικρότερος από τον αναμενόμενο για pH ίσο με 7,5 στις 26/11/2020 και 3/12/2020 (Πίνακας 5.12). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε φαινόμενα χημικής κατακρήμνισης φωσφόρου. Επομένως, τα μικρότερα ποσοστά αναχαίτισης του PURaer στο pH του 7,5 στο δοχείο Γ οφείλονται στους μικρότερους βαθμούς αναχαίτισης που προκαλεί η ξεχωριστή παρουσία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας στον αερόβιο ρυθμό δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs σε σχέση με τα pH του 8 και του 8,5.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 5.8 και των Πινάκων 5.9-5.14, διαπιστώνουμε ότι η διαφορά μεταξύ του πειραματικού και του αναμενόμενου βαθμού αναχαίτισης του PURaer στο δοχείο Γ είναι ανάλογη αυτής μεταξύ των πειραματικών και αναμενόμενων αναχαιτίσεων του PURaer υπό τη ξεχωριστή παρουσία του FNA και της FA στα δοχεία A και B, αντίστοιχα.

Πίνακας 5.8 Πειραματική και αναμενόμενη αναχαίτιση του PURaer υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA στο δοχείο Γ.

					pH=7	,5			
	Ημ/νια	NO2-N (mg/L)	NH4-N (mg/L)	FNA (x10 <sup>-3</sup> mg HNO2-	FA (mg NH3- N/L)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer	%Αναμενόμενη αναχαίτιση του PURaer		
Δοχείο Γ	26/11/2020	14,57	354,21	1,20	4,22	68	67		
(Συνδυασμ	3/12/2020	16,83	696,30	1,41	7,83	76	77		
ένη επίδοαση	10/12/2020	26,60	238,78	2,25	2,62	87	72		
		рН=8							
ΕΛτισμαση FA και	12/11/2020	18,95	187,94	0,47	7,86	87	65		
FNA)	20/11/2020	23,20	263,14	0,61	9,54	95	71		
,	19/12/2020	46,27	138,05	1,25	4,59	89	69		
	10/1/2021	54,93	147,03	1,45	5,22	92	72		
					pH=8	,5			
	10/2/2021	55,73	116,37	0,46	12,34	95	73		
	4/3/2021	76,83	111,07	0,62	12,50	100	75		

Πίνακας 5.9 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του PURaer παρουσία FNA για pH ίσο με 8.

	pH=8												
Δοχείο Α	Ημ/νια	NO2- Naverage (mg/L)	FNA (x10 <sup>-3</sup> mg HNO2- N/L)	PURaer Control (mg P/g VSS-hr)	PURaer A (mg P/g VSS- hr)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer	%Αναμενόμεν η αναχαίτιση του PURaer						
	12/11/2020	18,45	0,44	28,38	8,39	70	22						
(FINA)	20/11/2020	25,60	0,66	26,98	4,56	83	31						
	19/12/2020	45,07	1,22	22,29	3,13	86	45						
	10/1/2021	56,67	1,49	10,65	2,13	80	50						

Πίνακας 5.10 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FA για pH ίσο με 8.

	pH=8												
Δοχείο Β	Ημ/νια	NH4- Naverage (mg/L)		PURaer Control (mg P/g VSS-hr)	PURaer B (mg P/g VSS- hr)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer	%Αναμενόμεν η αναχαίτιση του PURaer						
	12/11/2020	146,37	6,65	28,38	12,65	55	51						
(FA)	20/11/2020	271,51	10,19	26,98	2,37	91	60						
	19/12/2020	135,42	4,51	22,29	12,36	45	42						
	10/1/2021	149,65	5,30	10,65	5,78	46	46						

Πίνακας 5.11 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FNA για pH ίσο με 7,5.

	pH=7,5												
Δοχείο Α	Ημ/νια	NO2- Naverage (mg/L)	FNA (x10 <sup>-3</sup> mg HNO2- N/L)	PURaer Control (mg P/g VSS-hr)	PURaer A (mg P/g VSS- hr)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer	%Αναμενόμεν η αναχαίτιση του PURaer						
(FNA)	26/11/2020	11,97	0,98	17,05	7,78	54	40						
	3/12/2020	14,13	1,17	24,15	10,83	55	44						
	10/12/2020	26,60	2,24	19,23	3,69	81	59						

Πίνακας 5.12 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FA για pH ίσο με 7,5.

	pH=7,5												
Δοχείο Β	Ημ/νια	NH4- Naverage (mg/L)	FA (mg NH3- N/L)	PURaer Control (mg P/g VSS-hr)	PURaer B (mg P/g VSS- hr)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer	%Αναμενόμεν η αναχαίτιση του PURaer						
(FA)	26/11/2020	324,58	3,87	17,05	13,01	24	39						
	3/12/2020	680,11	7,88	24,15	13,95	42	54						
	10/12/2020	237,29	2,62	19,23	12,46	35	31						

				pH=8,5			
		NO2-	FNA (x10 <sup>-3</sup>	PURaer	PURaer A	% Πειραματική	%Αναμενόμεν
	Ημ/νια	Naverage	mg HNO2-	Control (mg	(mg P/g VSS-	αναχαίτιση	η αναχαίτιση
ΔΟχείο Α		(mg/L)	N/L)	P/g VSS-hr)	hr)	του PURaer	του PURaer
(FNA)	10/2/2021	60,40	0,50	9,10	2,50	64	25
	4/3/2021	79.67	0.63	16 57	1 12	93	30

Πίνακας 5.13 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FNA για pH ίσο με 8,5.

Πίνακας 5.14 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης παρουσία FA για pH ίσο με 8,5.

	pH=8,5											
Δοχείο Β	Ημ/νια	NH4- Naverage (mg/L)	FA (mg NH3- N/L)	PURaer Control (mg P/g VSS-hr)	PURaer B (mg P/g VSS- hr)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer	%Αναμενόμεν η αναχαίτιση του PURaer					
(FA)	10/2/2021	102,01	10,68	9,10	1,52	78	61					
	4/3/2021	94,06	11,08	16,57	3,23	81	62					

## 5.4.2 Πειραματικός βαθμός αναχαίτισης του PURaer υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch

Οι πειραματικοί βαθμοί αναχαίτισης του PURaer που καταγράφηκαν μέσω των τριών σειρών πειραμάτων batch στο δοχείο Γ ήταν περίπου ίσοι με τους αναμενόμενους. Τα αναμενόμενα ποσοστά αναχαίτισης του PURaer υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA υπολογίζονται πολλαπλασιαστικά με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα στα δοχεία A και B (Πίνακας 5.15).

Πίνακας 5.15 Πειραματικός και αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του PURaer στο δοχείο Γ.

	Δοχείο	A	Δοχ	(είο Β	Δοχείο C	Δοχείο Α	Δοχείο Β	Δοχείο Α	Δοχείο Β	Δ	οχείο Γ
							pH=7,5				
Ημ/νια	NO2-N (mg/L)	FNA (x10 <sup>-3</sup> mg HNO2- N/L)	NH4-N (mg/L)	FA (mg NH3- N/L)	PURcontrol (mg P/g VSS-hr)	PURFNA (mg P/g VSS-hr)	PURFA (mg P/g VSS-hr)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer (FNA)	% Πειραματική αναχαίτιση του PURaer (FA)	%Πειραματι κή αναχαίτιση του PURaer (FA+FNA)	%Αναμενόμενη πειραματική αναχαίτιση του PURaer με βάση το δοχείο Α και Β (FA+FNA)
26/11/2020	11,97	0,98	324,58	3,87	17,05	10,50	14,49	54	24	68	65
3/12/2020	14,13	1,17	680,11	7,88	24,15	10,83	18,24	55	42	76	74
10/12/2020	26,60	2,24	237,29	2,62	19,23	3,69	12,46	81	35	87	88
							pH=8				
12/11/2020	18,45	0,44	146,37	6,65	28,38	7,99	12,65	70	55	87	87
20/11/2020	25,60	0,66	271,51	10,19	26,98	4,56	2,37	83	91	95	98
19/12/2020	45,07	1,22	135,42	4,51	22,29	3,13	12,36	86	45	89	92
10/1/2021	56,67	1,49	149,65	5,30	10,65	2,13	5,78	80	46	92	89
							oH=8,5				
10/2/2021	60,40	0,50	102,01	10,68	7,02	2,50	1,52	64	78	95	92
4/3/2021	79,67	0,63	94,06	11,08	16,57	1,12	3,23	93	81	100	99

Σύμφωνα με τις τιμές του παραπάνω πίνακα, παρατηρούμε ότι τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης που καταγράφηκαν στο δοχείο Γ για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου στις τρεις σειρές πειραμάτων δεν παρουσιάζουν μεγάλες αποκλίσεις από τα αναμενόμενα. Επομένως, ο προβλεπόμενος βαθμός αναχαίτισης του PURaer υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA μπορεί να υπολογιστεί πολλαπλασιαστικά με βάση τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης στα δοχεία A (FNA) και B (FA).

## 6 Συμπεράσματα

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, χρησιμοποιήθηκε βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας τύπου SBR για τη διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων κατά την ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Επίσης, η βιομάζα του αντιδραστήρα SBR υποβλήθηκε σε τρεις σειρές πειραμάτων batch, έτσι ώστε να προσδιοριστεί ο βαθμός αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs υπό τη συνδυασμένη επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νιτρώδους και αμμωνιακού αζώτου για τιμές του pH ίσες με 7,5, 8 και 8,5. Ο πιλοτικός SBR εργαστηριακής κλίμακας εγκαταστάθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του ΕΜΠ και λειτούργησε τη χρονική περίοδο Σεπτέμβριος-Απρίλιος 2020-2021. Κατά το στάδιο εκκίνησης του αντιδραστήρα προστέθηκε ανάμεικτο υγρό από την ανακυκλοφορία στο βιολογικό καθαρισμό της ΕΕΛ της Ψυττάλειας με σκοπό την ανάπτυξη των νιτρωδοποιητικών, απονιτρωδοποιητικών και πολυφωσφορικών βακτηρίων. Ο αντιδραστήρας επεξεργαζόταν στραγγίδια αφυδάτωσης, τα οποία περιείχαν υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου, από τη γραμμή επεξεργασίας ιλύος της ΕΕΛ της Ψυττάλειας. Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα άλλαξε σε συνθετικά λύματα, έπειτα από την αστοχία της φάσης καθίζησης περίπου στη μέση της 2<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας.

Ο σχεδιασμός του αντιδραστήρα SBR στηρίχθηκε σε προηγούμενες διπλωματικές εργασίες της Θέμελη Ε., 2019 και της Κούκουρα Α., 2020 οι οποίες ανέπτυξαν βιομάζα πολυφωσφορικών βακτηρίων, χρησιμοποιώντας βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησηςαπονιτρωδοποίησης. Έτσι, η λειτουργία του αντιδραστήρα περιλάμβανε 4 σύντομους κύκλους ημερησίως που ο καθένας αποτελούνταν από 1 ώρα αναερόβια, 2 ώρες αερόβια και 2,5 ώρες ανοξική φάση. Στο τέλος των ημερήσιων κύκλων, το σύστημα βρισκόταν σε ηρεμία για 2 ώρες, έτσι ώστε να καθιζάνουν τα αιωρούμενα στερεά και να αφαιρεθεί η εκροή και η περίσσεια ιλύς για την επίτευξη του επιθυμητού θc. Η εναλλαγή και η διάρκεια των φάσεων λειτουργίας του SBR

στόχευε στην επικράτηση των PAOs έναντι των ανταγωνιστών τους (GAOs, τυπικοί ετεροτροφικοί απονιτροποιητικοί μικροοργανισμοί). Επίσης, η επιλογή του προπιονικού οξέος σε συνδυασμό με τη διαδικασία της νιτρωδοποίησης οδήγησαν στην επικράτηση των PAOs II έναντι των γενών *Competibacter* και *Defluviiccocus vanus II,* αντίστοιχα. Η χρήση εξωτερικής πηγής άνθρακα ευνόησε το μεταβολισμό των τυπικών ετεροτροφικών απονιτροποιητικών βακτηρίων τα οποία πέτυχαν πλήρη απομάκρυνση των NO<sub>x</sub>-N μετά τη 1,5 ώρα της αναξικής φάσης, έτσι ώστε να ευνοηθεί ο αναερόβιας φάσης και μετά τη 1,5 ώρα ανοξικής φάσης, έτσι ώστε να ευνοηθεί ο αναερόβιος και ο ανοξικός μεταβολισμός των PAOs έναντι των τυπικών ετεροτροφικών.

Η λειτουργία του SBR διακρίνεται σε δύο περιόδους ανάλογα με το εισερχόμενο φορτίο αμμωνιακού αζώτου. Η 1<sup>η</sup> περίοδος λειτουργίας ξεκίνησε μόλις πραγματοποιήθηκε η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων και ήταν από τις 4 Νοεμβρίου 2020 έως τις 17 Ιανουαρίου 2021. Τη χρονική περίοδο αυτή ο αντιδραστήρας λειτουργούσε με αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,1±0,02 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Η δεύτερη περίοδος λειτουργίας του SBR ξεκίνησε στις 25/01/2021 όταν το εισερχόμενο φορτίο αζώτου ήταν ίσο με 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d και διακόπηκε στις 25/04/2021 με την αστοχία του συστήματος.

Οι τρεις σειρές πειραμάτων batch πραγματοποιήθηκαν εντός των δύο περιόδων λειτουργίας του αντιδραστήρα για τη διερεύνηση του βαθμού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA στις διάφορες συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου για τις διαφορετικές τιμές του pH (7,5, 8, 8,5).

Εκτός από τα παραπάνω πειράματα, πραγματοποιήθηκαν πειράματα ασυνεχούς τροφοδοσίας τύπου batch για τον έλεγχο της κατάστασης της βιομάζας, έτσι ώστε να εξακριβωθεί η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων, τις πρώτες 40 ημέρες λειτουργίας του SBR. Επίσης, η επίδραση της αλατότητας στην αερόβια δέσμευση φωσφόρου από τα PAOs διερευνήθηκε μέσω ενός πειράματος batch για pH ίσο με 8. Με βάση τα αποτελέσματα τα οποία προέκυψαν από την in-situ εβδομαδιαία παρακολούθηση των φυσικοχημικών παραμέτρων του αντιδραστήρα SBR και τα αποτελέσματα των πειραμάτων batch για τον προσδιορισμό του βαθμού αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου κατά την ταυτόχρονη παρουσία της FA και του FNA, καταλήγουμε στα παρακάτω συμπεράσματα:

- Ο μέσος αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια ήταν ίσος με 18-20 mg P/g VSS/hr κατά τη 1<sup>n</sup> περίοδο λειτουργίας του SBR με μέση εισερχόμενη αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,1 g NH4/m3-d. Η παρουσία του FNA σε μέση συγκέντρωση ίση με 0,1x10<sup>-3</sup> mg HNO2-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης δεν επηρέασε την αερόβια ταχύτητα δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs τα οποία ήταν εκτεθειμένα στις υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών.
- Ο μέγιστος αερόβιος ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου (PURaer=38,3 mg P/g VSS/hr) καταγράφηκε μία εβδομάδα μετά από τη μέγιστη παρατηρούμενη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου η οποία ήταν ίση με 12,86 mg NO<sub>2</sub>-N/L στο τέλος της αερόβιας φάσης, τη 1<sup>n</sup> περίοδο λειτουργίας του SBR. Επίσης, ο μέσος ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου ήταν περίπου ίσος με 8-10 mg P/g VSS/hr για αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,1 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Ο αερόβιος και ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου επηρεάστηκε κυρίως από τη παρουσία του FNA παρά από τη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου.
- Η μέση αερόβια ταχύτητα φωσφόρου ήταν ίση με 10,2 mg P/g VSS/hr κατά τη διάρκεια της 2<sup>ης</sup> περιόδου λειτουργίας του SBR για εισερχόμενη αμμωνιακή φόρτιση ίση με 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d. Επίσης, η ανοξική ταχύτητα απομάκρυνσης φωσφόρου μειώθηκε από 8-10 mg P/g VSS/hr σε 3-5 mg P/g VSS/hr, υποδεικνύοντας ότι τόσο ο αερόβιος όσο και ο ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου μειώθηκαν περίπου κατά 50% με την αύξηση της εισερχόμενης αμμωνιακής φόρτισης από 0,1 σε 0,155 g NH<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>-d.
- Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια αστόχησε, έπειτα από την αναχαίτιση τόσο του αερόβιου όσο και του

ανοξικού ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου σε συγκέντρωση FNA ίση με 8,15x10<sup>-3</sup> mg HNO<sub>2</sub>-N/L για pH ίσο με 6,5 στο τέλος της αερόβιας φάσης του αντιδραστήρα SBR. Τόσο η ανοξική όσο και η αερόβια ταχύτητα δέσμευσης φωσφόρου αναμένεται να αναχαιτιστούν κατά 85-90% στη συγκεκριμένη συγκέντρωση FNA.

- Ο ανοξικός ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου ήταν ίσος με το 35-40%
  του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου καθ'όλη τη διάρκεια λειτουργίας του SBR.
- Ο αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού απομάκρυνσης φωσφόρου υπό τη συνδυασμένη επίδραση της FA και του FNA μπορεί να υπολογιστεί πολλαπλασιαστικά με βάση τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης που προκύπτουν υπό τη ξεχωριστή παρουσία του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας.
- Τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου ήταν αρκετά μεγαλύτερα από τα αναμενόμενα υπό την επίδραση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος, υποδεικνύοντας ότι η βιομάζα των PAOs είχε μικρή αντοχή στο FNA, λόγω της έλλειψης εγκλιματισμού. Η αντοχή των PAOs στο FNA βελτιώθηκε, καθώς τα πειραματικά ποσοστά αναχαίτισης του αερόβιου ρυθμού απομάκρυνσης φωσφόρου ήταν μικρότερα για τις ίδιες συγκεντρώσεις νιτρώδους οξέος με την πάροδο του χρόνου.
- Το πειραματικό ποσοστό αναχαίτισης της αερόβιας ταχύτητας φωσφόρου υπό την επίδραση της FA συνάδει με τα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραματικών διπλωματικών εργασιών της Μισυρλή Θ., 2018 και Καλλή Μ., 2019.
- Η δημιουργία των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηρίων αποτελεί μία πολύπλοκη διαδικασία σε συστήματα επεξεργασίας στραγγιδίων αφυδάτωσης τα οποία περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου (π.χ. NH<sub>4</sub>-N=1.000 mg/L). Ο αναμενόμενος βαθμός αναχαίτισης της αερόβιας ταχύτητας δέσμευσης φωσφόρου από τα PAOs είναι μεγαλύτερος του 75% όταν η μισή αμμωνία (NH<sub>4</sub>-N=500 mg/L) έχει

μετατραπεί σε νιτρώδη (NO<sub>2</sub>-N=500 mg/L) κατά τη διάρκεια της νιτρωδοποίησης για τη βέλτιστη τιμή του pH (pH=8,2).

 Η μη δυνατότητα αυτοματοποιημένης ρύθμισης του pH αποτελεί βασική αδυναμία της παρούσας διερεύνησης, καθώς ελέγχει την παρουσία των βασικών ως προς τη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου αναχαιτιστικών ουσιών, για δεδομένη φόρτιση αζώτου. Η βέλτιστη ρύθμιση του pH κατά τη νιτρωδοποίηση σε συνδυασμό με την επιλογή κατάλληλης φόρτισης αμμωνιακού αζώτου ενδεχομένως δύναται να επιτρέψει την επαρκή παρουσία PAOs για την απαιτούμενη απομάκρυνση φωσφόρου σε συστήματα επεξεργασίας στραγγιδίων.

## 7 Βιβλιογραφία

Acevedo, B., Oehmen, A., Carvalho, G., Seco, A., Borrás, L., & Barat, R. (2012). Metabolic shift of polyphosphate-accumulating organisms with different levels of polyphosphate storage. *Water Research*, *46*(6), 1889-1900.

Ahn, Y. -. (2006). Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*, *41*(8), 1709-1721.

Akin, B. S., & Ugurlu, A. (2003). Biological removal of carbon, nitrogen, and phosphorus in a sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, *38*(8), 1479-1488.

Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B. S., & Srinath, E. G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 48(5), 835-852.

Bashar, R., Gungor, K., Karthikeyan, K. G., & Barak, P. (2018). Cost effectiveness of phosphorus removal processes in municipal wastewater treatment. *Chemosphere*, 197, 280-290.

Brdjanovic, D., Van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., & Heijnen, J. J. (1998). Minimal aerobic sludge retention time in biological phosphorus removal systems. *Biotechnology and Bioengineering*, *60*(3), 326-332.

Carvalheira, M., Oehmen, A., Carvalho, G., & Reis, M. A. M. (2014a). The effect of substrate competition on the metabolism of polyphosphate accumulating organisms (PAOs). *Water Research*, *64*, 149-159.

Carvalheira, M., Oehmen, A., Carvalho, G., & Reis, M. A. M. (2014b). Survival strategies of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms under conditions of low organic loading. *Bioresource Technology*, *172*, 290-296.

Carvalheira, M., Oehmen, A., Carvalho, G., Eusébio, M., & Reis, M. A. M. (2014c). The impact of aeration on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Research*, *66*, 296-307.

Carvalho, G., Lemos, P. C., Oehmen, A., & Reis, M. A. M. (2007). Denitrifying phosphorus removal: Linking the process performance with the microbial community structure. *Water Research*, *41*(19), 4383-4396.

Chen, H. -., Yang, Q., Li, X. -., Wang, Y., Luo, K., & Zeng, G. -. (2013). Post-anoxic denitrification via nitrite driven by PHB in feast-famine sequencing batch reactor. *Chemosphere*, *92*(10), 1349-1355.

Choi, D., Cho, K., & Jung, J. (2019). Optimization of nitrogen removal performance in a single-stage SBR based on partial nitritation and ANAMMOX. *Water Research*, *162*, 105-114.

Comeau, Y., Hall, K. J., & Oldham, W. K. (1985). A biochemical model for biological enhanced phosphorus removal. *Water Science and Technology*, *17*(11-12), 313-314.

Dai, Y., Yuan, Z., Wang, X., Oehmen, A., & Keller, J. (2007). Anaerobic metabolism of defluviicoccus vanus related glycogen accumulating organisms (GAOs) with acetate and propionate as carbon sources. *Water Research*, *41*(9), 1885-1896.

Duan, H., Wang, Q., Erler, D. V., Ye, L., & Yuan, Z. (2018). Effects of free nitrous acid treatment conditions on the nitrite pathway performance in mainstream wastewater treatment. *Science of the Total Environment, 644*, 360-370.

Duan, Y., Liu, Y., Zhang, M., Li, Y., Zhu, W., Hao, M., & Ma, S. (2020). Start-up and operational performance of the partial nitrification process in a sequencing batch reactor (SBR) coupled with a micro-aeration system. *Bioresource Technology*, *296* 

Federation, Water Environmental, American Public Health Association  $\kappa.\dot{a}$ . (2005). «Standard methods for the examination of water and wastewater».  $\Sigma \tau_0$ : American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA.

Feng, X. -., Bao, X., Che, L., & Wu, Q. -. (2021). Enhance biological nitrogen and phosphorus removal in wastewater treatment process by adding food waste fermentation liquid as external carbon source. *Biochemical Engineering Journal, 165* 

Filipe, C. D. M., Daigger, G. T., & Grady Jr., C. P. L. (2001). A metabolic model for acetate uptake under anaerobic conditions by glycogen accumulating organisms: Stoichiometry, kinetics, and the effect of pH. *Biotechnology and Bioengineering*, *76*(1), 17-31.

Filipe, C. D. M., Daigger, G. T., & Grady Jr., C. P. L. (2001). pH as a key factor in the competition between glycogen-accumulating organisms and phosphorus-accumulating organisms. *Water Environment Research*, *73*(2), 223-232.

Flores-Alsina, X., Ramin, E., Ikumi, D., Harding, T., Batstone, D., Brouckaert, C., . . . Gernaey, K. V. (2021). Assessment of sludge management strategies in wastewater treatment systems using a plant-wide approach. *Water Research, 190* 

Freitas, F., Temudo, M. F., Carvalho, G., Oehmen, A., & Reis, M. A. M. (2009). Robustness of sludge enriched with short SBR cycles for biological nutrient removal. *Bioresource Technology*, *100*(6), 1969-1976.

Frison, N., Katsou, E., Malamis, S., Oehmen, A., & Fatone, F. (2015). Nutrient removal via nitrite from reject water and polyhydroxyalkanoate (PHA) storage during nitrifying conditions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *90*(10), 1802-1810.

Galí, A., Dosta, J., Macé, S., & Mata-Alvarez, J. (2007). Comparison of reject water treatment with nitrification/denitrification via nitrite in SBR and SHARON chemostat process. *Environmental Technology*, *28*(2), 173-176.

Ge, S., Wang, S., Yang, X., Qiu, S., Li, B., & Peng, Y. (2015). Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, *140*, 85-98.

Guerrero, J., Guisasola, A., & Baeza, J. A. (2011). The nature of the carbon source rules the competition between PAO and denitrifiers in systems for simultaneous biological nitrogen and phosphorus removal. *Water Research*, *45*(16), 4793-4802.

Guo, H., Zhou, J., Zhang, S., & Guo, Z. (2011). Characteristics of nitrogen and phosphorus removal in a sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Sciences*, 23(SUPPL.), S110-S113.

Hood, C. R., & Randall, A. A. (2001). A biochemical hypothesis explaining the response of enhanced biological phosphorus removal biomass to organic substrates. *Water Research*, *35*(11), 2758-2766.

Hu, D., Zhou, Z., Niu, T., Wei, H., Dou, W., Jiang, L. -., & Lv, Y. (2017). Co-treatment of reject water from sludge dewatering and supernatant from sludge lime stabilization process for nutrient removal: A cost-effective approach. *Separation and Purification Technology*, *172*, 357-365.

Joss, A., Salzgeber, D., Eugster, J., König, R., Rottermann, K., Burger, S., . . . Siegrist, H. R. (2009). Full-scale nitrogen removal from digester liquid with partial nitritation and anammox in one SBR. *Environmental Science and Technology*, *43*(14), 5301-5306.

Kim, D. -., Jung, N. -., & Park, Y. -. (2008). Characteristics of nitrogen and phosphorus removal in SBR and SBBR with different ammonium loading rates. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *25*(4), 793-800.

Kim, D. -., Lee, D. -., & Keller, J. (2006). Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresource Technology*, *97*(3), 459-468.

Kornaros, M., Dokianakis, S. N., & Lyberatos, G. (2010). Partial nitrification/denitrification can be attributed to the slow response of nitrite oxidizing bacteria to periodic anoxic disturbances. *Environmental Science and Technology*, *44*(19), 7245-7253.

Li, H., Zhong, Y., Huang, H., Tan, Z., Sun, Y., & Liu, H. (2020). Simultaneous nitrogen and phosphorus removal by interactions between phosphate accumulating organisms (PAOs) and denitrifying phosphate accumulating organisms (DPAOs) in a sequencing batch reactor. *Science of the Total Environment*, *744* 

Liu, J., Yuan, Y., Li, B., Zhang, Q., Wu, L., Li, X., & Peng, Y. (2017). Enhanced nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater in an anaerobic-aerobic-anoxic sequencing batch reactor with sludge fermentation products as carbon source. *Bioresource Technology*, *244*, 1158-1165.

Liu, X., Kim, M., Nakhla, G., Andalib, M., & Fang, Y. (2020). Partial nitrification-reactor configurations, and operational conditions: Performance analysis. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *8*(4)

Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., & van Loosdrecht, M. C. M. (2009b). Temperature effects on glycogen accumulating organisms. *Water Research*, *43*(11), 2852-2864.

Lopez-Vazquez, C. M., Oehmen, A., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., Yuan, Z., & van Loosdrecht, M. C. M. (2009a). Modeling the PAO-GAO competition: Effects of carbon source, pH and temperature. *Water Research*, *43*(2), 450-462.

Lu, H., Oehmen, A., Virdis, B., Keller, J., & Yuan, Z. (2006). Obtaining highly enriched cultures of candidatus accumulibacter phosphates through alternating carbon sources. *Water Research*, *40*(20), 3838-3848.

Madigan, M., Martinko, J., Parker J., Απόδοση στα Ελληνικά: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης (2011). Brock Biology of Microorganisms, Tenth Edition.

Martins, A. M. P., Pagilla, K., Heijnen, J. J., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2004). Filamentous bulking sludge - A critical review. *Water Research*, *38*(4), 793-817.

Oehmen, A., Carvalho, G., Lopez-Vazquez, C. M., van Loosdrecht, M. C. M., & Reis, M. A. M. (2010). Incorporating microbial ecology into the metabolic modelling of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Research*, *44*(17), 4992-5004.

Oehmen, A., Lemos, P. C., Carvalho, G., Yuan, Z., Keller, J., Blackall, L. L., & Reis, M. A. M. (2007). Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Research*, *41*(11), 2271-2300.

Oehmen, A., Saunders, A. M., Vives, M. T., Yuan, Z., & Keller, J. (2006). Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources. *Journal of Biotechnology*, *123*(1), 22-32.

Oehmen, A., Vives, M. T., Lu, H., Yuan, Z., & Keller, J. (2005c). The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Research*, *39*(15), 3727-3737.

Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L. L., & Keller, J. (2004). Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Science and Technology*, *50*(10), 139-144.

Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L. L., & Keller, J. (2005b). Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Biotechnology and Bioengineering*, *91*(2), 162-168.

Oehmen, A., Zeng, R. J., Yuan, Z., & Keller, J. (2005a). Anaerobic metabolism of propionate by polyphosphate-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems. *Biotechnology and Bioengineering*, *91*(1), 43-53.

Oleszkiewicz, J. A., & Barnard, J. L. (2006). Nutrient removal technology in north america and the european union: A review. *Water Quality Research Journal of Canada, 41*(4), 449-462.

Ong, Y. H., Chua, A. S. M., Fukushima, T., Ngoh, G. C., Shoji, T., & Michinaka, A. (2014). High-temperature EBPR process: The performance, analysis of PAOs and GAOs and the fine-scale population study of candidatus "accumulibacter phosphatis". *Water Research*, *64*, 102-112.

Park, S., Bae, W., & Rittmann, B. E. (2010). Operational boundaries for nitrite accumulation in nitrification based on minimum/maximum substrate concentrations that include effects of oxygen limitation, pH, and free ammonia and free nitrous acid inhibition. *Environmental Science and Technology*, *44*(1), 335-342.

Peng, Y., & Zhu, G. (2006). Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73(1), 15-26.

Pijuan, M., Ye, L., & Yuan, Z. (2010). Free nitrous acid inhibition on the aerobic metabolism of poly-phosphate accumulating organisms. *Water Research*, *44*(20), 6063-6072.

Romain Lemaire (2007). Development and fundamental investigations of innovative technologies for biological nutrient removal from abattoir wastewater. Bachelor of Industrial and Environmental Processes Engineering Masters of Environmental and Water Processes Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, France.

Roots, P., Sabba, F., Rosenthal, A. F., Wang, Y., Yuan, Q., Rieger, L., . . . Wells, G. F. (2020). Integrated shortcut nitrogen and biological phosphorus removal from mainstream wastewater: Process operation and modeling. *Environmental Science: Water Research and Technology*, *6*(3), 566-580.

Saito, T., Brdjanovic, D., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2004). Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Research*, *38*(17), 3760-3768.

Sin, G., Niville, K., Bachis, G., Jiang, T., Nopens, I., Van Hulle, S., & Vanrolleghem, P. A. (2008). Nitrite effect on the phosphorus uptake activity of phosphate accumulating organisms (PAOs) in pilot-scale SBR and MBR reactors. *Water SA*, *34*(2), 249-260.

Sinha, B., & Annachhatre, A. P. (2007). Partial nitrification - operational parameters and microorganisms involved. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 6(4), 285-313.

Tian, W. -., Lopez-Vazquez, C. M., Li, W. -., Brdjanovic, D., & van Loosdrecht, M. C. M. (2013). Occurrence of PAOI in a low temperature EBPR system. *Chemosphere*, 92(10), 1314-1320.

Torà, J. A., Lafuente, J., Garcia-Belinchón, C., Bouchy, L., Carrera, J., & Baeza, J. A. (2014). High-throughput nitritation of reject water with a novel ammonium control loop: Stable effluent generation for anammox or heterotrophic denitritation. *Chemical Engineering Journal*, *243*, 265-271.

Wang, D., Wang, Y., Liu, Y., Ngo, H. H., Lian, Y., Zhao, J., . . . Li, X. (2017). Is denitrifying anaerobic methane oxidation-centered technologies a solution for the sustainable operation of wastewater treatment plants? *Bioresource Technology*, *234*, 456-465.

Wang, Q., Ye, L., Jiang, G., Hu, S., & Yuan, Z. (2014). Side-stream sludge treatment using free nitrous acid selectively eliminates nitrite oxidizing bacteria and achieves the nitrite pathway. *Water Research*, *55*, 245-255.

Wang, W., Xie, H., Wang, H., Xue, H., Wang, J., Zhou, M., . . . Wang, Y. (2020). Organic compounds evolution and sludge properties variation along partial nitritation and subsequent anammox processes treating reject water. *Water Research*, 184

Wang, X., Zeng, R. J., Dai, Y., Peng, Y., & Yuan, Z. (2008). The denitrification capability of cluster 1 defluviicoccus vanus-related glycogen-accumulating organisms. *Biotechnology and Bioengineering*, *99*(6), 1329-1336.

Wang, Y., Guo, G., Wang, H., Stephenson, T., Guo, J., & Ye, L. (2013). Long-term impact of anaerobic reaction time on the performance and granular characteristics of granular denitrifying biological phosphorus removal systems. *Water Research*, *47*(14), 5326-5337.

Wang, Y., Peng, Y., & Stephenson, T. (2009). Effect of influent nutrient ratios and hydraulic retention time (HRT) on simultaneous phosphorus and nitrogen removal in a two-sludge sequencing batch reactor process. *Bioresource Technology*, *100*(14), 3506-3512.

Welles, L., Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., van Loosdrecht, M. C. M., & Brdjanovic, D. (2015). Impact of salinity on the aerobic metabolism of phosphateaccumulating organisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*(8), 3659-3672.

Welles, L., Tian, W. D., Saad, S., Abbas, B., Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., . . . Brdjanovic, D. (2015). Accumulibacter clades type I and II performing kinetically different glycogen-accumulating organisms metabolisms for anaerobic substrate uptake. *Water Research*, *83*, 354-366.

Yoon, T. I., Lee, H. S., & Kim, C. G. (2004). Comparison of pilot scale performances between membrane bioreactor and hybrid conventional wastewater treatment systems. *Journal of Membrane Science*, 242(1-2), 5-12.

Yuan, C., Peng, Y., Ji, J., Wang, B., Li, X., & Zhang, Q. (2020). Advanced nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater via simultaneous enhanced biological phosphorus removal and semi-nitritation (EBPR-SN) combined with anammox. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *43*(11), 2039-2052.

Zeng, W., Li, B., Wang, X., Bai, X., & Peng, Y. (2016). Influence of nitrite accumulation on "candidatus accumulibacter" population structure and enhanced biological phosphorus removal from municipal wastewater. *Chemosphere, 144*, 1018-1025.

Zeng, W., Li, B., Yang, Y., Wang, X., Li, L., & Peng, Y. (2014). Impact of nitrite on aerobic phosphorus uptake by poly-phosphate accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal sludges. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *37*(2), 277-287.

Zeng, W., Yang, Y., Li, L., Wang, X., & Peng, Y. (2011). Effect of nitrite from nitritation on biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Bioresource Technology*, *102*(12), 6657-6664.

Zhang, X., Wang, C., Wu, P., Xia, Y., Chen, Y., Liu, W., . . . Faustin, F. (2021). A novel denitrifying phosphorus removal and partial nitrification, anammox (DPR-PNA) process for advanced nutrients removal from high-strength wastewater. *Chemosphere*, *265* 

Zhao, J., Wang, X., Li, X., Jia, S., & Peng, Y. (2018). Combining partial nitrification and post endogenous denitrification in an EBPR system for deep-level nutrient removal from low carbon/nitrogen (C/N) domestic wastewater. *Chemosphere, 210*, 19-28.

Zhao, J., Wang, X., Li, X., Jia, S., Wang, Q., & Peng, Y. (2019). Improvement of partial nitrification endogenous denitrification and phosphorus removal system: Balancing competition between phosphorus and glycogen accumulating organisms to enhance nitrogen removal without initiating phosphorus removal deterioration. *Bioresource Technology*, *281*, 382-391.

Zheng, M., Wang, Z., Meng, J., Hu, Z., Liu, Y., Yuan, Z., & Hu, S. (2021). Inactivation kinetics of nitrite-oxidizing bacteria by free nitrous acid. *Science of the Total Environment*, *752* 

Zheng, X., Sun, P., Han, J., Song, Y., Hu, Z., Fan, H., & Lv, S. (2014). Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) - A mini-review. *Process Biochemistry*, *49*(12), 2207-2213.

Zheng, X., Sun, P., Lou, J., Cai, J., Song, Y., Yu, S., & Lu, X. (2013). Inhibition of free ammonia to the granule-based enhanced biological phosphorus removal system and the recoverability. *Bioresource Technology*, *148*, 343-351.

Zhou, Y., Oehmen, A., Lim, M., Vadivelu, V., & Ng, W. J. (2011). The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants. *Water Research*, *45*(15), 4672-4682.

Ανδρεαδάκης Α. (2015). Επεξεργασία και Διαχείριση Λυμάτων και Ιλύος.

Θέμελη Ε. (2019). Διπλωματική Εργασία: Διερεύνηση μεθόδων ανάπτυξης πολυφωσφορικών βακτηρίων υπό συνθήκες υψηλού φορτίου αζώτου με παράλληλη νιτρωδοποίηση-απονιτρωδοποίηση.

Καλλή Μ., (2019): Διπλωματική Εργασία: Διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στη δράση των μικροοργανισμών που σχετίζονται με τη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου.

Κούκουρα Α. (2020). Διπλωματική εργασία: Διερεύνηση βέλτιστων συνθηκών επίτευξης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου σε συστήματα απομάκρυνσης αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης.

Μισυρλή Θ. (2018). Διπλωματική Εργασία: Διερεύνηση της επίδρασης του αμμωνιακού αζώτου στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου σε συστήματα επεξεργασίας στραγγιδίων.

# 8 Παραρτήμα: ΠίνακεςΙ. Παρακολούθηση συστήματος

#### Παρακολούθηση 4/11/2020

#### Πίνακας 1. Μετρήσεις παρακολούθησης 4/11/2020

	ТоС	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	19,3	7,41	-	146	-	69,33	-	-	2400	1640
AEPOBIA										
13:00	19,4	7,44	2,89	83,3		57,34	-			
13:30	19,5	8,11	4,99	-	13,95	35,53	2,3			
14:00	19,6	8,28	5,34	-	-	19,17	4,15			
14:30	19,7	8,31	5,87	-	-	6,64	7,9			
15:00	19,8	8,4	6,1	-	1,6	0,9	10,25	2,78		
ANOEIKH										
15:05	-	-	3,46							
15:09	-	-	0,5							
15:10	-	-	0,465							
16:28	20	8,8	-			4,42	3,25	1,31		

#### Παρακολούθηση 11/11/2020

#### Πίνακας 2. Μετρήσεις παρακολούθησης 11/11/2020

	ToC	pН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	20,1	7,45	-	-	-	62,7	-	-	3540	2380
AEPOBIA										
13:00	20,3	7,43	0,49	-		72,2	-			
13:30	20,3	7,92	1,88	-	12,9	50,5	2			
14:00	20,4	8,14	4,16	-	-	33	4,5			
14:30	20,4	8,44	6,59	-	-	20,1	8			
15:00	20,4	8,75	6	-	1,08	10,1	10	1,03		
ANOEIKH										
15:05	-	-	3,13							
15:09	-	-	0,5							
15:10	-	-	0,493							
16:28	20,4	8,63	-			14	0,15	0,461		

	ToC	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	18,2	7,98	-	144	-	18,29	-	-	3360	2120
AEPOBIA										
13:00	18,4	7,9	0,73	84,2		34,11	-			
13:30	18,6	8,25	2,92		12,23	13,98	3,15			
14:00	18,7	8,23	4		-	4,89	6,85			
14:30	18,6	8,35	5,1		-	1,65	10			
15:00	18,7	8,6	7,22		0,37	-	12,6	2,92		
ANOEIKH							10,5			
15:05	-	-	5,45							
15:10	-	-	4,61							
15:20	-	-	0,5							
16:28	19	8,83	-			-	3,75	1,35		

#### Πίνακας 3. Μετρήσεις παρακολούθησης 19/11/2020

#### Παρακολούθηση 25/11/2020

#### Πίνακας 4. Μετρήσεις παρακολούθησης 25/11/2020

	ТоС	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	16,8	7,4	-	149	-	47,38	-	-	4480	2820
AEPOBIA										
13:00	17,1	7,53	0,25	90,1		70,95	-			
13:30	17,2	8,18	0,6		15,76	32,63	1,3			
14:00	17,3	8,42	1,07		-	8,79	3,75			
14:30	17,4	8,43	2,76		-	2,12	6,65			
15:00	17,5	8,44	5,7		1,41	-	9,3	2,85		
ANOEIKH										
15:11	-	-	0,5							
16:28	17,8	8,78	-			-	2,4	0,998		

#### Παρακολούθηση 2/12/2020

#### Πίνακας 5. Μετρήσεις παρακολούθησης 2/12/2020

	ToC	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	16,2		-	144	-	16,94	-	-	3400	2260
AEPOBIA										
13:00	16,4		0,1	92,9		34,52	-			
13:30	16,6	8,2	1,08		10,55	11,82	0,7			
14:00	25	8,22	1,98		-	1,45	2,9			
14:30	17,2	8,14	4,28		-	-	5,5			
15:00	17,3	8,24	6,5		0,86	-	7,05	2,41		
ANOEIKH										
15:15	-	-	0,5							
16:28	17,4	8,47	-			-	0,5	0,57		

#### Παρακολούθηση 9/12/2020

		-	-	-	-	-			-	-
	ToC	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	16,9	7,64	-	76,4	-	31,48	-	-	4640	2960
AEPOBIA										
13:00	17,3	7,45	1,43	74,1		54,25	-			
13:30	17,5	7,83	4,56		15,64	35,79	2,5			
14:00	17,6	7,85	5,28		-	22,8	4,7			
14:30	17,8	7,96	6,71		-	11,01	7			
15:00	17,9	8,32	8,02		1,16	2,53	10,46	4,18		
ANOEIKH										
15:25	-	-	0,5							
16:28	18,1	8,63	-			-	9	2,9		

#### Πίνακας 6. Μετρήσεις παρακολούθησης 9/12/2020

#### Παρακολούθηση 16/12/2020

#### Πίνακας 6. Μετρήσεις παρακολούθησης 16/12/2020

	ToC	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	16,8	7,47	-	154	-	45,22	-	-	5460	3720
AEPOBIA										
13:00	16,7	7,58	1,5	117		70,74	-			
13:30	17	7,91	2,9		19,88	47,78	2,5	2,5		
14:00	17,3	7,96	4,07		-	26,37	7,5	7,5		
14:30	18,1	8,05	5,73		-	14,04	10,5	10,5		
15:00	17,4	8,43	8,13		2,9	3,94	12,86	4,12		
ANOEIKH										
15:23	-	-	0,5							
16:28	17,5	8,85	-			-	7,3	1,74		

#### Παρακολούθηση 23/12/2020

#### Πίνακας 7. Μετρήσεις παρακολούθησης 23/12/2020

	ToC	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	16,1	7,54	-		-	38,49	-	-	2360	1680
AEPOBIA										
13:00	16,4	7,33	0,19			69,6	-			
13:30	17	7,84	0,09		11,69	27,58	0,2			
14:00	16,9	8,1	0,08		-	5,29	0,5			
14:30	17	8,29	1,74		-	1,52	3,2			
15:00	17,1	8,24	3,4		2,61	0,6	5,9	1,96		
ANOEIKH										
15:04	-	-	0,5							
16:28	17,4	8,31	-			2,66	0,25	0,689		

#### Παρακολούθηση 29/12/2020

	ToC	pН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	16,3	7,35	-		-	59,57	-	-	6440	4400
AEPOBIA										
13:00	16,5	7,39	0,29			91,62	-			
13:30	16,7	8,19	0,47		11,69	39,16	0,25			
14:00	17	8,33	0,389		-	9,26	1,3			
14:30	17,1	8,12	1,01		-	-	4,95			
15:00	17,1	8,11	3,56		2,61	-	9,7	2,29		
ANOEIKH	17,1									
15:08	-	-	0,5							
16:28	17,3	8,41	-			-	0,4	0,487		

#### Πίνακας 8. Μετρήσεις παρακολούθησης 29/12/2020

#### Παρακολούθηση 5/1/2021

#### Πίνακας 9. Μετρήσεις παρακολούθησης 5/1/2021

	ToC	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	16,4	7,86	-	117	-	15,53	-	-	7020	4660
AEPOBIA										
13:00	16,6	7,72	0,37	51,1		41,11	-			
13:30	16,8	7,95	1,3		14,67	14,45	4,35			
14:00	16,9	7,95	3,84		-	3,47	11,6			
14:30	17,1	8,3	7,29		-	-	14,05			
15:00	17,2	8,51	8,97		2,67	-	12,6	4,23		
ANOEIKH										
15:20	-	-	0,5							
16:28	17,4	8,81	-			-	3,45	1,26		

#### Παρακολούθηση 13/1/2021

#### Πίνακας 9. Μετρήσεις παρακολούθησης 13/1/2021

	ТоС	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	18,3	7,33	-		-	45,23	-	-	5300	3560
AEPOBIA										
13:00	18,6	7,36	2,1	51,1	20,6	67,52	-			
13:30	18,6	8,15	4,05			24,89	0,2			
14:00	18,6	8,21	4,31		-	8,056	3,05			
14:30	18,7	8,4	5,79		-	5,14	4,5			
15:00	18,8	8,53	6,09		0,8	-	4,05	1,37		
ANOEIKH										
15:11	-	-	0,5							
16:28	18,8	8,28	-			0,73	0,25	-		

Παρακολούθηση 27/1/2021

	-	-	-	-	-				-	-
	ToC	рН	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	18,7	7,2	-			58,63			6,4	4,2
AEPOBIA										
13:00	19,3	7,26	1,7		28,41	69,6	-			
13:30	19,3	7,67	4,31		-	58,43	10			
14:00	19,5	7,64	3,1		-	45,16	16,9			
14:30	19,5	7,93	6,72		-	38,16	24,9			
15:00	19,5	8,21	7,35		0,96	27,72	25,5			
ANOEIKH										
15:15	-	-	0,5			-	-			
16:28	19.7	8.6	-			11.22	13.1			

#### Πίνακας 10. Μετρήσεις παρακολούθησης 27/1/2021

#### Παρακολούθηση 5/4/2021

#### Πίνακας 11. Μετρήσεις παρακολούθησης 5/4/2021

	ТоС	рΗ	DO	COD(mg/l)	NH4-N(mg/l)	PO4-P(mg/l)	NO2-N(mg/l)	NO3-N(mg/l)	TSS(mg/l)	VSS(mg/l)
ANAEPOBIA										
12:01	21,4	6,6	-			118,06			3,3	2,7
AEPOBIA										
13:00	21,5	6,6	0,33		25,27	115,37	-			
13:30	21,5	6,58	2,76		-	115,23	2,35			
14:00	21,5	6,55	4,2		-	114,02	5,9			
14:30	21,5	6,52	5,64		-	112,94	10,55			
15:00	21,5	6,5	6,44		8,42	113,61	10,45	4,32		
ANOEIKH										
15:20	-	-	0,5			-	-			
16:28	21,7	6,81	-			115,23	12,1	3,18		

## ΙΙ. Πειράματα batch

						pH=	:8					
		Δοχείο C			Δοχείο Naver=	A (NO2- 18,4mg/ I)	Δοχείο Β Naver=146	6 (NH4- 6,3mg/l)	Δοχείο Γ (NH Naver=188mg/l Naver=19mg		(NH4- ng/l NO 9mg/l)	2-
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
0	21,5	80,04	3080	2000	21,6	79 <i>,</i> 30	21,6	65,70	21,5	70,08	3380	2280
0,5	21,7	48,53			22	69,81	22	59 <i>,</i> 03	21,4	66,91		
1	21,8	23,27			22,3	59 <i>,</i> 37	22,3	57 <i>,</i> 69	21,3	64,55		
1,5	22	5,77			22,5	51,09	22,5	61,86	21,3	57,69		
2	22	0,72			22,6	42,47	22,8	53,91	21,2	55,00		
2,5	22	0,04			22,8	38,29	22,9	54,18	21,3	53,85		
3		-			22,9	27,65	23	58,96	21,3	49,07		
3,5	23	-			22,9	19,50	23,2	45,70	21,5	41,59		

## > 1° πείραμα 12/11/2020

## > 2° πείραμα 20/11/2020, pH=8

						pH=	8					
		Δοχείο C	;		<b>Δοχείο</b> Naver=	A (NO2- 25,6mg/ I)	Δοχείο Β Naver=27:	6 (NH4- 1,5mg/l)	Nav	Δοχείο Γ (NH4- Naver=263mg/l NO2- Naver=23,2mg/l)		
t(h)	ТоС	PO4- TSS(m V P(mg/l) g/l) m			ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
-1	18,6	35,87	3880	2300	18,7	35 <i>,</i> 53	18,6	43,14	18,6	47,72	3580	2240
0	19,4	106,30			19,7	81,99	19,5	65,70	19,4	69,74		
0,5	19,5	58,09			19,8	72,90	19,9	59,03	19,7	64,35		
1	19,5	30,01			19,9	66,71	19,9	57,69	19,7	68,26		
1,5	19,6	12,23			20	68,86	19,9	61,86	19,5	63,68		
2	19,5	3,61			19,9	57,82	19,9	53,91	19,3	61,19		
2,5	19,5	0,11			19,9	62,67	19,9	54,18	19,1	62,20		
3	3 19,5 -				19,9	56,07	19,9	58,96	19	56,27		
3,5	-	-			19,9	55,40	19,7	45,70	19	53,78		

## 3° πείραμα 26/11/2020

		-				pH=7	7,5					-
		Δοχείο C			Δοχείο Α (NO2- Naver=12mg/l)		Δοχείο Β (NH4- Naver=324,5mg/l)		Δοχείο Γ (NH4- Naver=354,2mg/l NO2- Naver=14,5mg/l)			
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
-1	17,9	52,57	3340	2160	17,8	52,97	17,8	56,34	17,8	59,23	2980	2080
0	18,8	101,39			18,7	96,34	18,7	83,48	18,7	88,06		
0,5	19,1	75,33			19,2	101,79	19,7	91,22	19,2	100,00		
1	19,4	63,21			19,5	91,69	19,5	71,29	19,7	100,00		
1,5	19,5	44,69			19,9	95 <i>,</i> 53	19,8	56,20	20	100,00		
2	19,7	24,62			19,9	90,01	19,8	36,41	19,9	94,72		
2,5	19,8	10,95			19,8	64,69	19,7	21,59	19,7	85,29		
3	19,9	-			19,7	51,62	19,6	10,35	19,5	84,76		
3,5	19,9	-			19,8	43,75	19,5	2,74	19,4	76,68		

#### 4° πείραμα 3/12/2020, pH=7,5

						pH=7	7,5					
		Δοχείο C	:		Δοχείο Α (NO2- Naver=14,1mg/ I)		Δοχείο Β (NH4- Naver=680,1mg/l)		Δοχείο Γ (NH4- Naver=696,3mg/l NO2- Naver=16,8mg/l)			
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
-1	17,2	51,02	3760	2560	17,2	52,97	17,2	46,04	17,2	47,76	3120	1880
0	18,3	104,69			18,5	94,65	18,4	92,34	18,4	82,24		
0,5	18,9	75,33			19	98,22	19	95 <i>,</i> 44	18,9	116,58		
1	19,3	42,87			19,5	92,34	19,4	74,18	19,3	121,97		
1,5	19,1	11,42			18,8	99,23	18,7	50,68	18,7	120,22		
2	19,3	0,72			19,2	89,20	19,2	25,43	18,6	110,93		
2,5	19,2	-			19,4	79,77	19,4	7,99	18,6	110,79		
3	19,2	-			19,4	65,56	19,5	-	18,6	112,27		
3,5	19,3	-			19,5	41,73	19,5	-	18,7	111,33		

## 5° πείραμα 10/12/2020, pH=7,5

		•	-	-		pH=7	7,5					
		Δοχείο Ο	:		Δοχείο Α (NO2- Naver=26,6 mg/l)		Δοχείο B (NH4- Naver=237,3mg/l)		Δοχείο Γ (NH4- Naver=238,7mg/l NO2- Naver=26,6mg/l)			
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
-1	18,3	45,56	3820	2480	18,3	46,78	18,2	49,74	18,2	44,53	3540	2400
0	18,3	103,88			18,5	93,31	18,4	87,65	18,2	97,59		
0,5	18,9	80,37			19	99 <i>,</i> 97	19	99,91	18,9	100,56		
1	18,9	50,68			18,9	98,76	18,8	80,78	18,7	110,39		
1,5	18,6	28,45			18,6	97,28	18,7	63 <i>,</i> 95	18,7	115,37		
2	18,2	10,61			18,2	86,04	18,2	49,20	18,2	111,60		
2,5	18,7	-			18,8	87,85	18,8	34,18	18,8	114,29		
3	17,8	-			18,1	80,58	17,8	22,26	17,7	105,00		
3,5	18,6	-			18,4	78,43	18,2	11,76	18,2	104,19		

#### 6° πείραμα 19/12/2020, pH=8

						pH=	-8						
		Δοχείο C	:		Δοχείο Α (NO2- Naver=45 mg/l)		Δοχείο B (NH4- Naver=135,4mg/l)		Δοχείο Γ (NH4- Naver=138mg/l NO2- Naver=46,3mg/l)				
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	
-1	16,1	44,15	3160	2040	16,1	42,67	16,1	42,06	16,1	38,06	3460	2380	
0	17,7	104,28			17,7	86,04	17,7	107,42	17,7	95,30			
0,5	18	84,15			18,1	85,43	18,1	85 <i>,</i> 07	18,1	92,88			
1	18,4	41,25			18,4	87,52	18,4	63,01	18,4	91,80			
1,5	18,5	28,53			18,5	88,93	18,5	59 <i>,</i> 57	18,5	75,10			
2	17,9	18,43			17,9	83,01	17,9	50,21	17,9	74,56			
2,5	18	8,59			18	81,19	18	39,97	18	68,64			
3	18,1	1,86			18,1	81,52	18,1	24,08	18,1	66,75			
3,5	18,5	-			18,5	73,71	18,5	9,47	18,5	64,73			

#### 7° πείραμα 10/1/2021, pH=8

		-	-	•		pH=	8					
	1	Δοχείο Ο	2		Δοχείο Α (NO2- Naver=56,6 mg/l)		Δοχείο Β (NH4- Naver=150mg/l)		Δοχείο Γ (NH4- Naver=147mg/l NO2- Naver=55mg/l)			
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
-1	17,3	40,51	5820	3940	17,3	41,32	17,3	43,34	17,4	44,22	6280	4360
0	18,8	50,99			18,9	75,87	18,8	86,68	18,8	80,62		
0,5	19,2	47,05			19,1	75,66	19,1	80,76	19,2	78,74		
1	19,1	20,18			19,2	75 <i>,</i> 87	19,2	67,99	19,2	74,29		
1,5	19,1	5,09			19	73 <i>,</i> 58	19	65,70	19,1	81,57		
2	19,2	0,31			19,5	69,67	19,3	53 <i>,</i> 85	19,3	74,16		
2,5	19,4	0,24			19,5	66,37	19,5	45,03	19,5	78,47		
3	18,7	3,61			18,7	62,13	18,7	30,75	18,7	74,02		
3,5	18,5	0,244			18,5	56,34	18,5	20,31	18,6	72,68		

#### 8° πείραμα 10/2/2021, pH=8,5

						pH=8	3,5					
		Δοχείο C			Δοχείο Α (NO2- Naver=60 mg/l)		Δοχείο Β (NH4- Naver=102mg/l)		Δοχείο Γ (NH4- Naver=116,3mg/l NO2- Naver=55,7mg/l)			
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
-1	20,3	31,83	6500	4460	20,3	29,47	20,3	27,38	20,4	31,96	6280	4360
0	19,8	73,62			19,6	66,37	19,6	74,16	19,8	66,48		
0,5	19,6	50,35			19,1	62,33	19,1	71,46	19,2	64,60		
1	19,5	29,34			19,5	60,58	19,7	59,97	19,6	64,73		
1,5	19,5	17,42			19,7	54,25	19,5	57,75	19,4	62,98		
2	19,5	11,83			19,3	50,61	19,5	52 <i>,</i> 37	19,5	64,33		
2,5	19,7	6,44			19,5	43,21	19,2	49,27	19,8	63,38		
3	19,9	5,97			19,3	44,96	18	46,84	18,4	63,79		
3,5	19,7	2,668			19,1	40,78	18,2	43,41	18,7	61,36		

## 9° πείραμα 10/2/2021, pH=8,5

		-				pH=8	3,5					
		Δοχείο C	:		Δοχείο Α (NO2- Naver=79,6 mg/l)		Δοχείο Β (NH4- Naver=94mg/I)		Δοχείο Γ (NH4- Naver=111mg/l NO2- Naver=76mg/l)			
t(h)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	ТоС	PO4- P(mg/l)	TSS(m g/l)	VSS( mg/l)
-1	18,8	32,16	6060	3920	18,8	34,38	18,7	39,84	18,6	36,94	5760	3700
0		66,61				59,77		63,24		57,18		
0,5	20,8	35,86			20,8	58 <i>,</i> 35	20,8	56,78	21	56,78		
1		1,66				59 <i>,</i> 30		50,07		60,01		
1,5	21	-			21	57 <i>,</i> 95	21	46,03	21	61,63		
2		-				54,85		37,01		56,51		
2,5		-				53,44		33,71		62,17		
3		-				50,47		33,03		61,90		
3,5		-				48,66		25,29		62,30		