



Politechnika Wroclawska

**KATEDRA GOSPODARKI WODNO-ŚCIEKOWEJ
I TECHNOLOGII ODPADÓW**

INSTRUKCJE DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH
Systemy oczyszczania ścieków

OCZYSZCZANIE ŚCIEKÓW

Opracowali (z wykorzystaniem wcześniejszych opracowań):

dr inż. Kamil Janiak

dr inż. Stanisław Miodoński

dr inż. Mateusz Muszyński-Huhajło*

WROCLAW 2024

* uwagi i błędy proszę zgłaszać mailowo: mateusz.muszynski-huhajlo@pwr.edu.pl

Ćwiczenie 3. Minimalizacja zużycia tlenu

Cel ćwiczenia:

Celem ćwiczenia jest określenie różnic w zapotrzebowaniu na tlen w procesach pełnej i skróconej nityfikacji azotu amonowego.

W ramach ćwiczenia obowiązuje wiedza z zakresu przemian azotu opisana w instrukcjach 1 i 2.

Pełna i skrócona nityfikacja azotu amonowego

Azot, zaliczany do pierwiastków biogenych stanowi jedno z głównych zanieczyszczeń obecnych w ściekach komunalnych. Zrzut związków azotu wraz ze ściekami do wód powierzchniowych stanowi istotne zagrożenie dla ekosystemu wodnego i utrzymania wysokiej jakości rzek i jezior.

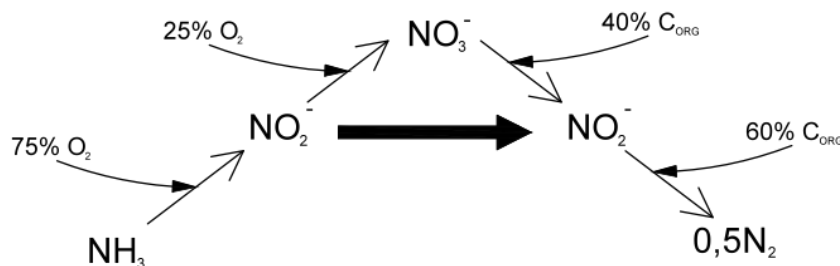
Nityfikacja odgrywa kluczową rolę w biologicznym oczyszczaniu ścieków, zwłaszcza w procesie usuwania azotu. Jest to proces mikrobiologiczny, który polega na utlenianiu amoniaku (NH_3) do azotanów (NO_3^-), co odbywa się w dwóch etapach, z NO_2^- jako produktem pośrednim. Za I fazę nityfikacji (nitytację, z ang. nitritation) odpowiedzialne są nityfikanty I fazy (AOB; ang. ammonium oxidizing bacteria). Produkt ich metabolizmu (N-NO_2) jest następnie utleniany do N-NO_3 przez bakterie II fazy nityfikacji (nitratacji, z ang. nitrattation) określane skrótem NOB (ang. nitrite oxidizing bacteria).

Obydwie fazy procesu nityfikacji przebiegają w warunkach tlenowych, gdzie tlen jest ostatecznym akceptorem elektronów. Do pełnego utlenienia 1 g N-NH_4 niezbędne jest dostarczenie 4,57 g O_2 , z czego 3,43 g O_2 zużywane jest podczas produkcji azotanów (III), a 1,14 g O_2 na potrzeby utlenienia ich do azotanów (V). W rzeczywistości wartości te są nieco niższe, ponieważ zaprezentowane równania nie uwzględniają procesu syntezy komórek przyrastającej biomasy.

Zdecydowana większość układów technologicznych wykorzystuje proces pełnej nitytacji, polegający na utlenianiu azotu amonowego do N-NO_3 jako produktu końcowego. Następnie, w procesie denityfikacji produkt ten jest redukowany do azotu cząsteczkowego i usuwany do atmosfery. Biorąc pod uwagę różnice w charakterystyce nityfikantów I i II fazy, możliwe jest prowadzenie procesu nityfikacji w wersji skróconej, z N-NO_2 jako ostatecznym produktem, co wymaga jednak właściwej kontroli warunków procesowych.

Skrócona nityfikacja-denityfikacja

Dążąc do minimalizacji kosztów eksploatacyjnych zwrócono uwagę na możliwość prowadzenia procesu nityfikacji w sposób skrócony, w którym końcowym produktem utleniania azotu amonowego pozostają azotany (III). Utlenienie ładunku azotu amonowego wyłącznie do azotanów (III) będzie skutkowało obniżeniem zapotrzebowania na tlen o 25%, co w istotny sposób zmniejszy zużycie energii elektrycznej na napowietrzanie. Kolejną korzyścią płynącą z prowadzenia tego procesu jest niższe o 40% zapotrzebowanie na biodegradowalne związki organiczne w procesie denityfikacji. To ostatnie pozwala wydatnie zwiększyć potencjał denityfikacyjny układu, poprawiając tym samym efektywność usuwania azotu i/lub zmniejszając koszty dawkowania zewnętrznego źródła węgla. Poza tym następuje zmniejszenie produkcji osadu nadmiernego, a więc i kosztów jego przeróbki. Rysunek 1 obrazuje jak na tle konwencjonalnych przemian z pełną nityfikacją–denityfikacją przebiega proces skrócony z pominięciem produkcji azotanów (V).



Rysunek 1. Przebieg procesu skróconej nitryfikacji–denitryfikacji (pogrubiona strzałka) na tle konwencjonalnej drogi usuwania azotu na drodze pełnej nitryfikacji–denitryfikacji.

Osiągnięcie skróconej drogi usuwania azotu wymaga zahamowania produkcji azotanów (V) przez bakterie NOB. Wymaga to utrzymywania odpowiednich warunków eksploatacyjnych w reaktorze osadu czynnego, sprzyjającym wywołaniu selektywnej inhibicji nitratacji. Dotychczas zidentyfikowano szereg czynników umożliwiających wywołanie takiego stanu, pośród których należy wymienić: wiek osadu, temperaturę, stężenie tlenu rozpuszczonego, odczyn oraz stężenie substancji inhibitujących.

Wiek osadu

Odpowiednia kontrola wieku osadu jest czynnikiem warunkującym prowadzenie efektywnego procesu nitryfikacji. Z uwagi na różnice kinetyki przyrostu obu grup nitrifikantów, możliwe jest eksploatawanie układu technologicznego przy wieku osadu pozwalającym na selektywnym wymywaniu bakterii NOB. Bakterie AOB charakteryzują się szybszą kinetyką wzrostu niż NOB. Ustalenie roboczego wieku osadu (WO) w przedziale pomiędzy minimalnymi wartościami WO niezbędnym do utrzymania w reaktorze AOB i NOB pozwoli na wymywanie z układu nitrifikantów II fazy i akumulacji azotanów (III).

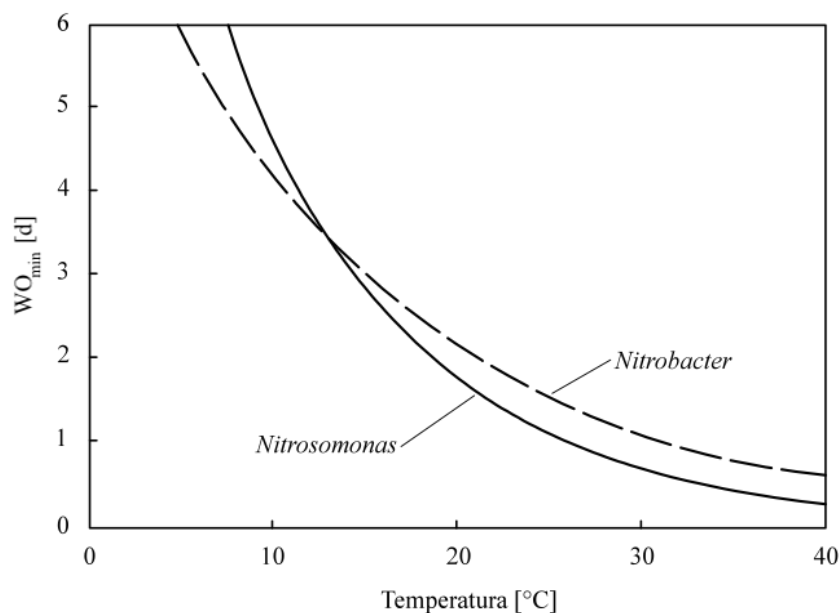
$$\text{WO}_{\text{min,AOB}} < \text{WO} < \text{WO}_{\text{min,NOB}} \quad (8)$$

Doświadczenia płynące z eksploatacji układów ze skróconą nitryfikacją w pełnej skali technicznej wykazały, że odpowiedni WO dla zapewnienia znaczącej akumulacji N- NO_2 mieści się w przedziale około 1,5–3 d. Minimalny wiek osadu dla każdej grupy nitrifikantów zależy od szeregu czynników wpływających na ich szybkość przyrostu netto, tj. różnicę obserwowanej stałej szybkości przyrostu i stałej szybkości obumierania w warunkach prowadzenia procesu. Stała szybkości przyrostu nitrifikantów zależy od dostępności substratów, temperatury (decydującej o wartości maksymalnej stałej szybkości przyrostu) oraz obecności substancji toksycznych i inhibitujących.

Zebrane doświadczenia wskazują, że wiek osadu nie jest parametrem warunkującym krytycznie możliwość realizacji skróconej nitryfikacji. Możliwe jest to również przy długich WO, ale wymaga zastosowania innych czynników wywołujących selektywną inhibicję NOB.

Temperatura

Temperatura procesu odgrywa kluczową rolę, decydując o tempie metabolizmu prowadzonego przez bakterie nitryfikacyjne. Nitrifikanty obu grup wykazują różną wrażliwość na temperaturę otoczenia.



Rysunek 2. Minimalny wiek osadu dla grup nityfikantów (Nitrosomonas – AOB, Nitrobacter – NOB) w różnych temperaturach.

Bakterie AOB posiadają większe wartości stałej szybkości przyrostu niż NOB w temperaturach powyżej około 14°C (rysunek 2), co w konsekwencji przekłada się na odpowiednio krótszy minimalny wiek osadu i daje możliwość wymywania NOB z reaktora przy odpowiednio wysokiej temperaturze i krótkim wieku osadu.

Stężenie tlenu rozpuszczonego

W procesie nityfikacji tlen, jako ostateczny akceptor elektronów, warunkuje możliwość prowadzenia procesu. Zgodnie z tradycją inżynierską przyjęto, że stężenie tlenu na poziomie 2 g O₂/m³ jest optymalne dla prowadzenia procesu pełnej nityfikacji, zarówno pod kątem efektywności procesu, jak i kosztów eksploatacyjnych. Duża rozpiętość stałych powinowactwa tlenu dla AOB (0,2–0,7 g O₂/m³) oraz NOB (0,4–1,5 g O₂/m³) sprawia, że odpowiednia kontrola stężenia tlenu może być kolejnym czynnikiem pozwalającym na wymuszenie przebiegu procesu nityfikacji z pominięciem produkcji azotanów (V). Istotną rolę tlenu w utrzymaniu stabilnej skróconej nityfikacji potwierdzono doświadczalnie, wykazując, że utrzymywanie niskiego stężenia tlenu (0,4–0,7 g O₂/m³) daje możliwość osiągnięcia zadowalającego stopnia usunięcia NOB z układu.

Odczyn

Wpływ odczynu na proces nityfikacji jest powszechnie znany. Stężenie jonów H⁺ wpływa znacznym stopniu na aktywność enzymatyczną nityfikantów obu faz, co przekłada się na przebieg procesu. Optymalne pH dla poszczególnych grup nityfikantów mieści się w zakresie 8,2±0,3 dla AOB oraz 7,9±0,4 dla NOB. Poza bezpośrednim wpływem na metabolizm bakterii w roztworach zawierających azot amonowy i azotany (III), pH i temperatura decydują o równowadze pomiędzy ich jonowymi i niejonowymi formami, odpowiednio w postaci wolnego amoniaku (FA, N-NH₃) i wolnego kwasu azotowego (III) (FNA, N-HNO₂). Z uwagi na toksyczność tych niejonowych form dla wielu mikroorganizmów oraz kluczową rolę NH₃ jako bezpośredniego substratu w procesie nityfikacji, kontrola odczynu pH, przekładająca się na utrzymywanie ich stężeń na odpowiednim poziomie, może w znacznym stopniu wpływać na szybkość poszczególnych faz nityfikacji, a także służyć jako czynnik wywołujący selektywną inhibicję bakterii NOB w procesie skróconej nityfikacji.

Inhibicja wolnym amoniakiem (FA)

Wysokie stężenia wolnego amoniaku mają negatywny wpływ na aktywność nityfikantów obu faz, jak również na inne bakterie wykorzystywane w procesach biologicznego oczyszczania ścieków. Każda z grup mikroorganizmów charakteryzuje się innym stopniem wrażliwości na działanie tej substancji, co, zwłaszcza w przypadku nityfikantów, może być wykorzystane do kontroli populacji bakterii NOB i w efekcie wywołania nityfikacji drogą skróconą. Rezultaty badań jednoznacznie wykazały, że NOB charakteryzują się znacznie wyższą wrażliwością na stężenia wolnego amoniaku. Inhibicja tej grupy bakterii pojawia się przy stężeniach powyżej 0,1 g N-NH₃/m³ przy całkowitym zahamowaniu ich aktywności powyżej stężenia 1,0 g N-NH₃/m³, podczas gdy dla nityfikantów AOB progi te wynosiły odpowiednio 10 i 150 g N-NH₃/m³. Tak duże różnice w progach inhibicji pomiędzy obiema grupami bakterii pozwalają traktować stężenie FA jako potencjalny czynnik pozwalający na selektywne usunięcie NOB z biocenozy osadu czynnego.

Inhibicja wolnym kwasem azotowym (III) (FNA)

Stężenie wolnego kwasu azotowego (III) zależy od warunków panujących w reaktorze, w którym gromadzi się azot azotanowy (III), a więc w układach z niepełną nityfikacją. Podobnie jak w przypadku FA, również FNA ma toksyczny wpływ na szereg mikroorganizmów osadu czynnego.

Za stężenie graniczne, powyżej którego obserwuje się częściową inhibicję nityfikacji, uznaje się 0,2 g N-HNO₂/m³. Całkowita inhibicja następuje powyżej 2,8 g N-HNO₂/m³. Progi inhibicji określone dla bakterii z gatunku *Nitrobacter* wynoszą około 0,035 g N-HNO₂/m³. Analogicznie do wolnego amoniaku, również w przypadku wolnego kwasu azotowego (III), nityfikanty z grupy AOB charakteryzują się znacznie wyższą tolerancją na działanie tej substancji niż NOB: 50% spadek aktywności tych mikroorganizmów możemy odnotować dopiero w stężeniach powyżej około 0,4 g N-HNO₂/m³. Tak znaczne różnice stężeń wywołujących inhibicję poszczególnych grup nityfikantów pozwalają traktować FNA jako skuteczne narzędzie do selektywnej inhibicji NOB.

Literatura:

van Loosdrecht, M. C., Nielsen, P. H., Lopez-Vazquez, C. M., & Brdjanovic, D. (Eds.). (2016). *Experimental methods in wastewater treatment*. IWA publishing.

Metcalf, L., Eddy, H. P., & Tchobanoglous, G. (1991). *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse* (Vol. 4). New York: McGraw-Hill.

Tomaszewski, M., Cema, G., & Ziemińska-Buczyńska, A. (2017). Nowe trendy w usuwaniu azotu amonowego ze ścieków: nitytacja–anammox w niskiej temperaturze. *Inżynieria Ekologiczna*, 18(2).

Miodoński, S., Muszyński-Huhajło, M., & Rucka, K. (2018). Impact of nitrification rate test procedure on results in activated sludge tests. *Proceedings of ECOpole*, 12.

Sposób wykonania ćwiczenia

Przebieg ćwiczenia:

1. Do reaktora wlać 3.5 dm³ osadu czynnego z procesu skróconej nityfikacji (płukany wcześniej trzykrotnie wodą technologiczną).
2. Włączyć mieszanie i napowietrzanie.
3. Zamontować sondy tlenu rozpuszczonego i pH. Uruchomić rejestrację danych.
4. Ustawić kontrolę temperatury na 20.0°C
5. Skorygować odczyn (około pH 7.0-7.2).
6. Po ustabilizowaniu warunków dodać naważkę chlorku amonu odpowiadającą 120 gN/m³.
7. Rozpocząć pobieranie próbek z interwałem podanym w trakcie zajęć. Próby natychmiast filtrować za pomocą filtrów strzykawkowych. Objętość pojedynczej próbki to 8-10 cm³.
8. W trakcie testu oznaczyć stężenie osadu w badanej mieszaninie.
9. W próbach oznaczać stężenie azotu amonowego, azotanów(III) i (V).
10. Po poborze ostatniej próby wyłączyć pomiary, mieszanie i napowietrzanie.
11. Zgrać dane z mierników.
12. Uporządkować stanowisko.

Lista wykonywanych oznaczeń i potrzebnego sprzętu

1. azot amonowy (test kuwetowy)
 2. azot azotynowy (test kuwetowy)
 3. azot azotanowy (test kuwetowy)
 4. zawiesiny (metoda wagowa pośrednia)
- reaktor z płaszczem wodnym o pojemności 5 dm³ (z napowietrzaniem, mieszadłem mechanicznym i podłączonym ultratermostatem)
 - osad czynny z procesu częściowej nitracji (3.5 dm³) – odpłukany trzykrotnie
 - sonda tlenowa
 - sonda pH
 - rejestrator do sond
 - pipeta do poboru próbek z przyciętą końcówką
 - 8% NaHCO₃ i 6% HCl do korekty pH
 - Chlorek amonu (do naważki)
 - spektrofotometr
 - testy kuwetowe na azot amonowy, azot azotynowy i azot azotanowy
 - statyw z probówkami
 - pipeta do wykonania oznaczeń
 - strzykawki do sączenia z sączkami i watą

Opracowanie wyników

Wyniki analiz należy wraz z danymi z sond wpisać do arkusza MS Excel. W ramach przygotowania danych pomiarowych przed dalszą analizą należy wykorzystać wyłącznie dane gromadzone przez czujniki w trakcie testu (poprzez usunięcie punktów niemiernodajnych lub nie prezentujących warunków w trakcie eksperymentu).

Warunki prowadzenia eksperymentu

Parametry procesowe (pH, temperatura, stężenie tlenu) należy przedstawić na wykresie wraz z obliczeniem wartości średnich, odchyłek standardowych i przedziałów ufności dla średnich oraz skomentować ich potencjalny wpływ na badany proces.

Wyniki oznaczeń analitycznych

Przebieg stężeń azotu amonowego, azotynów i azotanów prześledzić pod kątem wartości potencjalnie błędnych (w razie potrzeby usunąć je z dalszych analiz) i dla każdej z form azotu określić zbiór danych, na podstawie którego określona zostanie kinetyka ubytku/przyrostu ich stężenia w czasie.

Kinetykę przebiegu stężeń poszczególnych zanieczyszczeń wyznaczyć za pomocą regresji liniowej (wraz z wykresem) oraz przedstawić wartość współczynnika korelacji dla każdej z nich. Porównać zgodność dynamiki ubytku substratów ze wzrostem stężenia powstających produktów. Obliczoną objętościową dynamikę procesu przeliczyć w oparciu o wyniki oznaczeń stężenia osadu na wartości jednostkowe (w przeliczeniu na gram suchej masy organicznej na godzinę) i porównać wyniki ze sobą, komentując potencjalne różnice i ich przyczyny. Oddzielnie określić dynamikę I i II fazy nityfikacji. Dynamikę procesu ustandaryzować względem 20°C zgodnie ze wzorem:

$$R_{nit,20} = R_{nit,T} \cdot \theta^{(20-T)}$$

Wartość współczynnika korekcyjnego (θ) przyjąć na podstawie danych literaturowych dla nityfikantów. Uzyskane rezultaty porównać ze sobą i skomentować.

Wyniki z procesu pełnej nityfikacji (ćwiczenie 1) oraz skróconej nityfikacji (ćwiczenie 3) porównać pod kątem jednostkowego zużycia tlenu na proces I i II fazy nityfikacji (w przeliczeniu $\text{gO}_2/\text{gN-NH}_{4,\text{utlenionego}}$). Wyniki obliczeń zapotrzebowania tlenu porównać z wartościami literaturowymi i skomentować.

Pytania kontrolne

1. Jakie warunki powodują inhibicję nityfikantów II fazy?
2. Jakie korzyści daje wprowadzenie procesu skróconej nityfikacji-denitryfikacji?
3. Jaką rolę odgrywają koszty napowietrzania w bilansie energetycznym oczyszczalni ścieków?

Oznaczenie stężenia osadu

Nazwa próby		Objętość	Masy krystalizatorów, g		
			MO (pusty)	M ₁₀₅ (Wysuszony)	Różnica
Próba 1	„całe”	50			
	„przesącz”	50			

Wyniki:

Stężenia g/m ³	Sucha pozostałość	Substancje rozpuszczone	Zawiesiny
Próba 1			

Wyniki oznaczeń

Nr	Czas, min	N-NH ₄ , g N/m ³	N-NO ₂ , g N/m ³	N-NO ₃ , g N/m ³
1	0 ⁺			
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				