

Mechanizmy i kinetyka nitryfikacji i denitryfikacji w warunkach niskiego stężenia tlenu rozpuszczonego

Ewa Klimiuk

Katedra Chemii i Technologii Wody i Ścieków
Akademia Rolniczo-Techniczna
Olsztyn-Kortowo

1. Wstęp

W układach technologicznych ze zintegrowanym usuwaniem związków węgla, azotu i fosforu metodą osadu czynnego, zachodzi konieczność utrzymania równowagi dynamicznej pomiędzy gatunkami mikroorganizmów o zróżnicowanych wymaganiach substratowych i tlenowych. Z tego względu w układach przepływowych wydziela się strefy: beztlenową, anoksyczną i tlenową, a w reaktorach półciągłych wprowadza następujące po sobie fazy napowietrzania i mieszania.

Obecnie wiadomo, że o efektywności usuwania związków biogenych w ściekach miejskich decyduje stosunek pomiędzy stężeniem łatwo przyswajalnych związków organicznych oraz stężeniem azotu i fosforu. Negatywny wpływ azotanów na proces uwalniania ortofosforanów z osadu czynnego w warunkach anoksycznych jest dobrze udokumentowany w piśmiennictwie naukowym (1-4). W ostatnich doniesieniach wskazuje się, że obecność azotanów wpływa na zmniejszenie ilości wiązanych ortofosforanów w warunkach tlenowych (5).

Z tego powodu duże zainteresowanie budzi możliwość prowadzenia procesu z pominięciem azotanów jako końcowego produktu nitryfikacji. Jest to możliwe, gdy w reaktorze zostaną stworzone warunki do tzw. równoczesnej nitryfikacji i denitryfikacji. Usuwanie azotu może wówczas zachodzić w pojedynczym reaktorze, w tym samym czasie. Znajomość mechanizmów oraz czynników stymulujących tego typu proces w warunkach limitowanego dostępu tlenu jest niezbędna zarówno do projektowania oczyszczalni ścieków jak i kontroli warunków technologicznych w osadzie czynnym.

Z analizy danych z piśmiennictwa wynika różnorodność podejścia autorów do zagadnień metodycznych w zakresie badań nad równoczesną nitryfikacją i denitryfikacją. W kraju badania tego typu są nieliczne. Brak jest również

jednoznacznych kryteriów wytyczających kierunki badań w tej dziedzinie. Z tego powodu celowe jest przedstawienie przeglądu piśmiennictwa obejmującego stan dotychczasowej wiedzy na temat:

- mechanizmów utlenienia azotu z udziałem chemolitotroficznych bakterii nitryfikacyjnych w hodowlach o ograniczonym stężeniu tlenu rozpuszczonego,
- warunków heterotroficznej nitryfikacji,
- analizy stechiometrii i kinetyki równoczesnej nitryfikacji i denitryfikacji.

2. Mechanizmy utleniania azotu amonowego z udziałem chemolitotroficznych bakterii nitryfikacyjnych w hodowlach o ograniczonym stężeniu tlenu rozpuszczonego i w warunkach anoksycznych

W osadzie czynnym równoczesna nitryfikacja i denitryfikacja może być stymulowana przez:

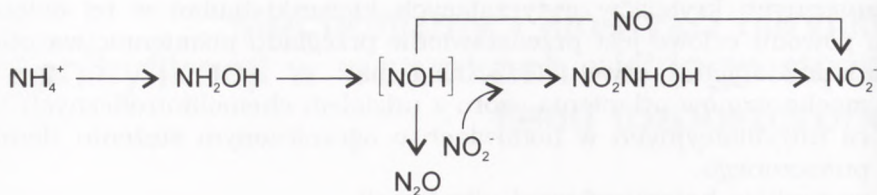
- czynniki fizyczne, czyli dyfuzję tlenu i substancji organicznych do kłaczków osadu. W wyniku ograniczeń dyfuzji tlenu, w kłaczku osadu czynnego występują strefy tlenowa i beztlenowa. W strefie tlenowej zachodzą procesy nitryfikacji, podczas gdy równocześnie w beztlenowej — denitryfikacja (6-8);
- czynniki biotyczne, związane ze składem gatunkowym mikroorganizmów i ich aktywnością biochemiczną.

Podczas gdy w warunkach tlenowych, na podłożach mineralnych utlenianie azotu amonowego do azotynów z udziałem chemolitotroficznych bakterii nitryfikacyjnych zachodzi w stosunku stechiometrycznym, to w obecności substancji organicznych i przy ograniczonym stężeniu rozpuszczonego tlenu produktami końcowymi mogą być tlenki azotu. Tlenki azotu i/lub azot cząsteczkowy powstają również w warunkach anoksycznych (9-11).

Mechanizmy prowadzące do powstawania tlenków azotu z udziałem bakterii z rodzaju *Nitrosomonas* nie zostały jeszcze jednoznacznie rozpoznane. Przyjmuje się, że mogą one być wynikiem:

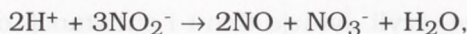
- sekwencyjnego utleniania azotu amonowego i wytwarzania tlenków azotu w wyniku rozkładu niestabilnych produktów utlenienia hydroksyloaminy;
- chemicznego rozkładu azotynów (chemodenitryfikacja),
- wykorzystywania azotynów jako akceptorów elektronów w procesie utleniania azotu amonowego.

Kumaran, Shivaraman (12) podają, że utlenienie azotu amonowego przy udziale bakterii nitryfikacyjnych zachodzi jako szereg reakcji następujących, zgodnie z przedstawionym schematem:



Pierwszym produktem pośrednim jest hydroksyloamina, której wytwarzanie jest katalizowane przez monooksygenazę amonową. Hydroksyloamina ulega następnie utlenieniu do niestabilnego NOH. Dalej w zależności od warunków reakcji produktami końcowymi mogą być azotyny lub (w warunkach beztlenowych) tlenek dwuazotu.

Proces chemicznego rozkładu azotynów (chemodenitryfikacja) przebiega zgodnie z reakcją:

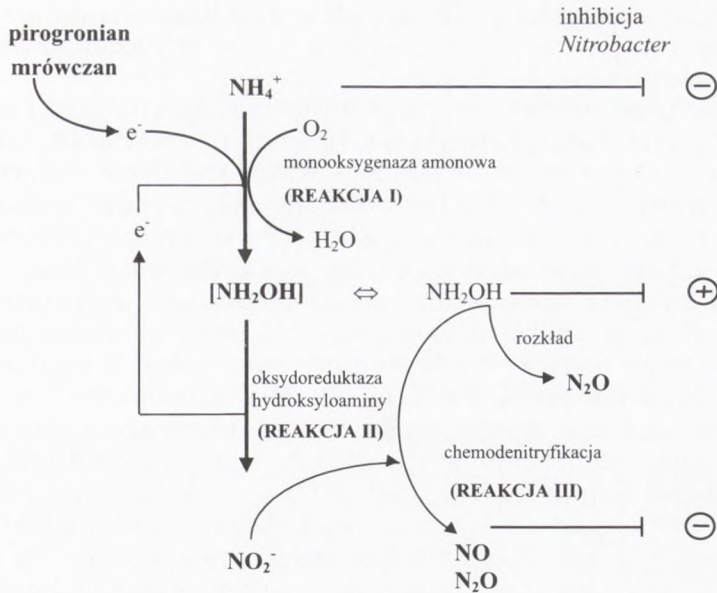


a czynnikiem stymulującym jest niski odczyn w środowisku. W glebach silnie zakwaszonych procesy chemodenitryfikacji zachodzą z dużą intensywnością (13). W oczyszczalniach ścieków mają znaczenie raczej marginalne.

Na drodze chemicznej azotyny mogą być również redukowane w reakcji z hydroksyloaminą. Taki mechanizm został zaproponowany przez Stüvena i wsp. (11). Autorzy badali utlenienie azotu amonowego przez *Nitrosomonas* w podłożu zawierającym związki organiczne, tj. pirogronian i mrówczan, przy ograniczonym stężeniu tlenu rozpuszczonego. W obecności pirogronianu lub mrówczanu tlenki azotu powstają w wyniku następujących reakcji:

- enzymatycznego utlenienia azotu amonowego do hydroksyloaminy (reakcja I),
- utlenienia hydroksyloaminy do azotynów (reakcja II),
- chemicznego rozkładu hydroksyloaminy do tlenku dwuazotu oraz/lub redukcji azotynów przy udziale hydroksyloaminy do tlenku azotu i tlenku dwuazotu (reakcja III), (rys. 1).

Zdaniem autorów na podłożach mineralnych wydajność nityfikacji z udziałem *Nitrosomonas* jest limitowana szybkością utlenienia hydroksyloaminy do azotynów (reakcja II), ponieważ dwa elektrony pochodzące z tej reakcji biorą udział w utlenianiu azotu amonowego do hydroksyloaminy (reakcja I). Oprócz azotu amonowego, *Nitrosomonas* mogą również jako dawcę elektronów wykorzystywać pirogronian lub mrówczan. Wówczas wytwarzanie hydroksyloaminy przestaje być limitowane ilością dostępnych elektronów i może zachodzić szybciej. W takich warunkach dochodzi do kumulacji hydroksyloaminy, która następnie redukuje obecne w środowisku azotyny na drodze chemicznej (reakcja III) (chemodenitryfikacja). Produktami procesu są wówczas tlenek azotu i tlenek dwuazotu.



Rys. 1. Hipotetyczny schemat wytwarzania tlenków azotu przez bakterie z rodzaju *Nitrosomonas europaea* podczas utleniania amoniaku w obecności pirogronianu i mrówczanu jako donatorów elektronów.

Abeliovich (14) w przeprowadzonych badaniach wykazał, że w warstwie przydennej głębokich (6 – 10 m) zbiorników służących do magazynowania ścieków bytowych do nawadniania gruntów, tworzą się ściśle warunki beztlenowe. Pomimo to, liczebność bakterii *Nitrosomonas* rosła z $1,0 \cdot 10^1/cm^3$ komórek w czerwcu do $1,0 \cdot 10^6/cm^3$ komórek w sierpniu. Skłoniło to do podjęcia dalszych, bardziej szczegółowych badań nad metabolizmem *Nitrosomonas europaea* w warunkach beztlenowych.

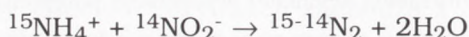
Abeliovich i Vonshak (15) wykazali, że w warunkach ściśle beztlenowych czyste kultury *Nitrosomonas europaea* mogą redukować azotyny. Szybkość redukcji była największa w hodowlach zawierających jako donory elektronów azot amonowy i pirogronian. W obecności samego amoniaku lub tylko pirogronianu redukcja azotynów znacząco spadała. Obecność innych związków organicznych, takich jak: glukoza, etanol, kwas mlekowy, propionowy, propanol i kwas octowy nie stymulowała redukcji azotynów. Testowane szczepy nie redukowały również azotanów. Autorzy wykazali, że w obecności pirogronianu, amoniaku i azotynów (0,5 – 1,0 mM) wzrost komórek, miał charakter autotroficzny. Testowane szczepy do syntezy biomasy wykorzystywały CO_2 , a nie węgiel organiczny z pirogronianu.

Van de Graaf i wsp. (16) przeprowadzali badania w mieszanych populacjach ze znaczonego azotem i wykazali, że:

- usuwanie amoniaku ze środowiska jest wynikiem procesów biologicznych, a nie chemodenityfikacji,

- utlenianie amoniaku może zachodzić przy braku nawet śladowych ilości tlenu, a jedynie w obecności azotynów lub azotanów jako akceptorów elektronów,
- końcowym produktem reakcji jest wówczas głównie azot cząsteczkowy.

Potwierdzeniem tezy, że utlenianie amoniaku w obecności azotanów jest wynikiem procesów biologicznych były wykonane przez autorów badania z osadem czynnym. Próby właściwe zawierały osad czynny z dodatkiem azotu amonowego oraz azotanów, podczas gdy próby kontrolne samą wodę osadową, wodę osadową po wysterylizowaniu, wysterylizowany osad i wodę osadową, osad czynny i wodę osadową poddane naświetleniu promieniami γ . W celu stwierdzenia w jakim stopniu azot cząsteczkowy stanowiący końcowy produkt reakcji pochodzi z utlenienia azotu amonowego, a w jakim z redukcji azotanów, wykonano testy z izotopem ^{15}N . Dla oszacowania uzyskanych danych przeanalizowano hipotetyczne reakcje utlenienia azotu amonowego z udziałem azotanów, azotynów i tlenu jako akceptorów elektronów. Określono udział znaczonych atomów azotu ^{15}N w produkcie końcowym reakcji. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że w produktach końcowych ilość azotu cząsteczkowego będąca mieszaniną izotopu ^{15}N i azotu ^{14}N , stanowiła ok. 98%. Wynik ten wskazuje z dużym prawdopodobieństwem, że proces zachodził zgodnie z reakcją:



Zdaniem autorów otrzymane wyniki mogą dowodzić, że w pierwszym etapie utleniania azotu amonowego do hydroksyloaminy tlen może pochodzić również z cząsteczki wody, a nie jak powszechnie przyjmowano, z tlenu cząsteczkowego.

Obecnie większość autorów uważa, że powstawanie tlenków azotu jest związane ze zdolnością redukcji azotynów przez bakterie z rodzaju *Nitrosomonas*. Dowodem takich możliwości jest obecność w komórkach *Nitrosomonas europaea* reduktazy azotynowej, którą wykryli Miller i Nicholas (17).

Remde, Conrad (10) badali utlenianie azotu amonowego przez *Nitrosomonas europaea* oraz *Nitrosovibrio*. W badaniach wpływu stężenia tlenu i liczebności komórek w hodowli na ilość wytwarzanych tlenków azotu wykazano, że:

- w hodowli *Nitrosomonas* ilość wytwarzanego NO i N_2O w warunkach beztlenowych wzrosła odpowiednio 3,1 i ok. 700-krotnie w porównaniu z warunkami tlenowymi. W hodowli *Nitrosovibrio* — natomiast 2,4 oraz 680-krotnie. Stąd wynika, że ilość wytworzonego tlenku dwuazotu w warunkach beztlenowych oraz przy ograniczonym stężeniu tlenu rozpuszczonego rosła szybciej niż tlenku azotu. Wraz ze spadkiem stężenia tlenu molowy stosunek NO/ N_2O w produktach końcowych malał;
- ilość wytwarzanego tlenku azotu rosła proporcjonalnie do liczebności komórek w hodowli. Przy wzroście liczebności komórek z $1,0 \cdot 10^5$ do $1,0 \cdot 10^7$ proporcja NO/ NO_2^- uległa zmianie z 0,014 do 0,026; a $\text{N}_2\text{O}/\text{NO}_2^-$

— z 0,001 do 0,039. Stąd wynika, że wraz ze wzrostem gęstości komórek stosunek $\text{NO}/\text{N}_2\text{O}$ zmalał z 14,29 do 0,66.

Autorzy stwierdzili, że ilość tlenków azotu wytwarzanych w wyniku chemicznego rozkładu azotynów stanowiła mniej niż 15% ich całkowitej ilości.

Badania z czystymi kulturami *Nitrosomonas europaea* i *Nitrosomonas eutropha* prowadzili Bock i wsp. (9). W warunkach, gdy w hodowli jedyny akceptor elektronów stanowiły azotyny i w obecności wodoru cząsteczkowego *Nitrosomonas eutropha* wykorzystywała go jako substrat, a obecny w środowisku azot amonowy nie był wówczas utleniany. Wzrost liczby komórek był sprzężony z redukcją azotynów. Przy braku wodoru cząsteczkowego *Nitrosomonas eutropha* mogła wykorzystywać azot amonowy. Produktem końcowym był głównie azot cząsteczkowy. Utlenianie amoniaku i eliminacja azotynów zachodziły równocześnie w stosunku stechiometrycznym.

W badaniach Bock i wsp. (9) wykazano ponadto, że azot amonowy nie był utleniany do azotynów w stosunku stechiometrycznym, gdy stężenie tlenu w hodowli wyniosło $0,4 \text{ mg O}_2 \cdot \text{dm}^{-3}$. Z bilansu wynika, że około 14% azotu amonowego zostało przekształcone do tlenków. Przy obniżeniu stężenia tlenu do $0,2 \text{ mg O}_2 \cdot \text{dm}^{-3}$, ilość azotu amonowego przekształcona do tlenków była jeszcze wyższa i wyniosła 60%. Bakterie *Nitrosomonas europaea* i *Nitrosomonas eutropha*, które rosły przez okres kilku miesięcy przy ograniczonym stężeniu tlenu rozpuszczonego charakteryzowały się większą zdolnością redukcji azotynów w porównaniu z rosnącymi w warunkach tlenowych. Ponadto w komórkach stwierdzono warstwy dużej i małej gęstości elektronów w przestrzeni peryplazmatycznej występującej pomiędzy błoną zewnętrzną a warstwą peptydoglikanu komórek. Autorzy sugerują, że w przestrzeni peryplazmatycznej o dużej gęstości elektronów mogą się znajdować nie zidentyfikowane jeszcze enzymy, których rola nie została dotąd wyjaśniona. Do tej pory nie wyizolowano reduktaz NO i N_2O , co stanowiłoby dowód, że bakterie *Nitrosomonas* są zdolne redukować tlenki azotu do azotu cząsteczkowego. Nie wyjaśniono jeszcze powodu, dla którego bakterie utleniające amoniak redukują końcowe produkty reakcji, czyli azotyny. W jednej z przypuszczalnych hipotez zakłada się, że zdolność wykorzystywania azotynów zamiast tlenu jako akceptorów elektronów ma zapobiegać kumulacji azotynów w środowisku. Z piśmiennictwa wynika, że azotyny nagromadzone w dużych stężeniach działają toksycznie zarówno na *Nitrosomonas* jak i *Nitrobacter*. Ponadto w warunkach, gdy stężenie tlenu w hodowli jest małe, redukcja azotynów pozwala na zmniejszenie ilości zużywanego tlenu cząsteczkowego przez *Nitrosomonas* i tym samym bardziej racjonalne jego wykorzystywanie.

Ograniczenie stężenia lub brak tlenu rozpuszczonego w środowisku wpływa również na metabolizm *Nitrobacter*. W szczegółowych badaniach prowadzonych z czystymi kulturami tych bakterii wykazano obecność w komórkach oksydoreduktazy azotynowej. Sundermeyer-Klinger i wsp. (18) wyizolowali czysty enzym z komórek *Nitrobacter hamburgensis*. Stała Michaelisa-Menten charakteryzująca szybkość utleniania azotynów wyniosła $K_m = 3,6 \text{ mM}$, natomiast redukcji azotanów $K_m = 0,9 \text{ mM}$. Sugeruje to wyższe powinowactwo enzymu do redukcji azotanów.

W dalszych badaniach Bock i wsp. (19) potwierdzono, że metabolizm niektórych szczepów *Nitrobacter* jest kontrolowany przez oksydoreduktazę azotynową oraz, że stała szybkości redukcji azotanów jest większa niż stała utleniania azotynów do azotanów. Dzięki temu w warunkach tlenowych niektóre szczepy *Nitrobacter* mogą utleniać azotyny do azotanów, a w anoksyicznych redukować azotany do azotynów, amoniaku, azotu cząsteczkowego, a w szczególności do tlenków azotu.

Autorzy wykazali również, że optymalne warunki dla utlenienia azotynów i rozmnażania niektórych szczepów *Nitrobacter* nie są identyczne, ponieważ:

- gdy utleniają one azotyny, ich wzrost ma charakter autotroficzny;
- gdy redukują azotany, to jako źródło węgla do procesów wzrostu wykorzystują związki organiczne.

Część testowanych szczepów *Nitrobacter* uznali za preferujące warunki wzrostu beztlenowo-tlenowe z tego powodu, że ich szybkość namnażania w warunkach beztlenowych była większa niż w tlenowych.

3. Charakterystyka procesów nityfikacji heterotroficznej

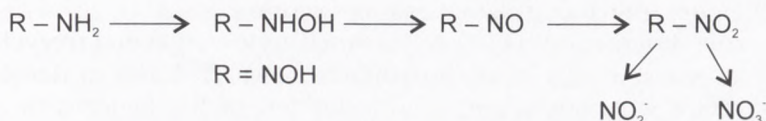
Przy ograniczonym dostępie tlenu, utlenienie azotu może być skutkiem nie tylko procesów chemolitotroficznej, ale również heterotroficznej nityfikacji. Procesy heterotroficznej nityfikacji były szczegółowo badane w glebach. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że utlenianie azotu może zachodzić przy udziale tych samych bakterii co denityfikacja (20-22,13,23).

Zdolność heterotroficznej nityfikacji szczególnie dobrze udokumentowano w przypadku bakterii *Alcaligenes faecalis* (20,23).

Castignetti i Hollocher (21) badali zdolność heterotroficznej nityfikacji dla dwunastu szczepów bakterii denityfikacyjnych izolowanych z gleb. Wykazali, że w podłożu zawierającym oksym pirogronianu (7 mM) i ekstrakt drożdżowy (0,05%), zdolność utleniania azotu organicznego do azotynów wykazywało sześć szczepów. Najbardziej efektywnie proces zachodził w kulturach *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas denitrificans* i *Pseudomonas fluorescens* 400. Schmiel i wsp. (24) eliminowali procesy autotroficznej nityfikacji wprowadzając do gleby acetylen, który powodował inhibicję wzrostu bakterii *Nitrosomonas* i chloran sodu — inhibitor *Nitrobacter*. Pomimo to obserwowali zwiększenie stężenia azotanów w glebie, co uznali za dowód występowania heterotroficznej nityfikacji. Papen i wsp. (23) porównali zdolność wzrostu i wytwarzania azotynów, azotanów i tlenków azotu przez szczepy *Alcaligenes faecalis* DSM 30030, *Alcaligenes eutrophus* DSM 428, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Arthrobacter* sp. DSM 312 i *Arthrobacter* sp. 917. Procesy heterotroficznej nityfikacji występowały najbardziej intensywnie podczas rozmnażania komórek. Najwięcej produktów nityfikacji wykrywano bowiem w fazie wzrostu wykładniczego i liniowego. Obok azotanów i azotynów wykryto również znaczne ilości tlenków azotu — NO i N₂O. Ilość azotynów wytwarzana przez *Alcaligenes faecalis* była sześciokrotnie większa w porównaniu z pozostałymi szczepami. Z tego powodu właściwości hete-

rotroficznej nityfikacji autorzy wiązali głównie z tym szczepem. Anderson i wsp. (25) badali wytwarzanie produktów pośrednich przez czyste kultury *Alcaligenes faecalis* i *Nitrosomonas europaea* w hodowlach na podłożach syntetycznych. Stwierdzili podobną ilość wytwarzanego tlenu azotu w obu kulturach, ale 10-krotnie większą ilość tlenu dwuazotu w kulturze *Alcaligenes faecalis*. Na podstawie przeprowadzonych badań sugerowali, że obecność tlenu dwuazotu nie tylko w glebach, ale i wodach powierzchniowych o małym stężeniu tlenu może być skutkiem heterotroficznej nityfikacji. Autorzy uważają ponadto, że mechanizm wytwarzania NO i N₂O przez autotroficzne bakterie nityfikacyjne *Nitrosomonas europaea* i heterotroficzne bakterie *Alcaligenes faecalis* jest taki sam.

W osadzie heterotroficzna nityfikacja jest wiązana z utlenianiem związków organicznych zawierających azot i przebiega zgodnie ze schematem:



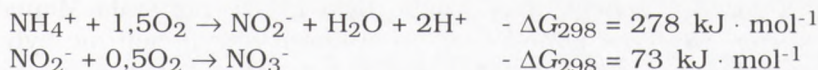
W przeciwieństwie do autotroficznej nityfikacji, przyjmuje się powszechnie, że mechanizm heterotroficznego utleniania azotu amonowego nie jest sprzężony ze wzrostem i namnażaniem bakterii. Jest on raczej uznawany jako rodzaj dodatkowego utlenienia związków organicznych.

Robertson i wsp. (26) wykazali jednak, że bakterie *Thiosphaera pantotropa* mogą utleniać azot amonowy w warunkach tlenowych, jako źródło węgla organicznego wykorzystując octan lub bursztynian. Szybkość utleniania azotu organicznego przy udziale heterotrofów jest mniejsza od autotroficznej nityfikacji o współczynnik rzędu 10³ - 10⁴.

4. Kinetyka równoczesnej nityfikacji i denityfikacji

Z przedstawionego przeglądu literatury wynika złożoność procesu nityfikacji przy ograniczonym dostępie tlenu i w warunkach anoksycznych.

W osadzie czynnym z wydzieloną komorą nityfikacji i denityfikacji, procesy utlenienia azotu amonowego zachodzą zgodnie z reakcją (27):



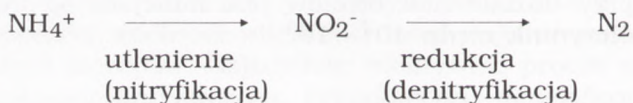
a szybkość I fazy nityfikacji jest mniejsza niż fazy II. Na podstawie przeprowadzonej analizy kinetyki wzrostu czystych kultur bakterii nityfikacyjnych (28) można stwierdzić, że maksymalna specyficzna szybkość wzrostu

Nitrobacter wynosi średnio — $\mu = 1,0 \text{ d}^{-1}$ (0,4 – 3,0 d^{-1}), podczas gdy *Nitrosomonas* jest nieco niższa — średnio $\mu = 0,7 \text{ d}^{-1}$ (0,3 – 2,0 d^{-1}).

O szybkości wzrostu bakterii denitryfikacyjnych, natomiast, decydują przede wszystkim rodzaj i stężenie związków organicznych oraz akceptorów elektronów w środowisku (29-32). W latach siedemdziesiątych przeprowadzono wiele badań nad określeniem proporcji C:N potrzebnej do denitryfikacji z wykorzystaniem metanolu jako źródła węgla. W zależności od typu hodowli i warunków technologicznych uzyskane przez autorów wartości mieściły się w przedziale 1,4 – 3,5 $\text{g C} \cdot \text{g}^{-1} \text{N}_{\text{NO}_3}$ (cyt. za Grabińską-Łoniewską (31)). W ściekach bytowo-gospodarczych najłatwiej przyswajalnym źródłem węgla dla mikroorganizmów są niskocząsteczkowe substancje organiczne. Ich zawartość jest jednak niewielka i zazwyczaj nie przekracza 15 – 20% zanieczyszczeń organicznych mierzonych wartością ChZT (33,34). Bardziej złożone substancje organiczne, występujące w formie koloidów i zawiesin, ulegają adsorpcji, hydrolizie, a następnie rozkładowi do prostszych związków, przyswajalnych przez mikroorganizmy osadu czynnego.

Teoretycznie stosunek ChZT:N w ściekach bytowo-gospodarczych jest wystarczający do całkowitego pokrycia zapotrzebowania bakterii denitryfikacyjnych na węgiel organiczny. Jednak w układach technologicznych z denitryfikacją wstępną, część związków organicznych występujących w postaci zawiesin jest utleniana dopiero w komorze nityfikacji. Wanner (8) podaje, że dla całkowitej denitryfikacji stosunek ChZT:N powinien być liczony w odniesieniu do zawartości substancji łatwo rozkładalnych w ściekach, a jego wartość powinna wynosić 8 $\text{g ChZT} \cdot \text{g}^{-1} \text{N}_{\text{NO}_3}$.

W układach z równoczesną nityfikacją i denitryfikacją istnieje możliwość utleniania amoniaku tylko do azotynów (I faza nityfikacji), wówczas proces denitryfikacji jest skrócony do:



Przy takim przebiegu procesu, zapotrzebowanie węgla organicznego (jako ChZT) na denitryfikację ulegnie zmniejszeniu o około 40%. Jest on zatem szczególnie korzystny w przypadku ścieków, w których stosunek związków organicznych do azotu (ChZT:N) jest niski (35).

Münch i wsp. (36) analizowali proces nityfikacji i denitryfikacji w reaktorze SBR w warunkach laboratoryjnych kontrolując stężenie tlenu. Gdy stężenie tlenu rozpuszczonego w reaktorze było niższe niż stała Monoda (K_m) dla *Nitrobacter*, wówczas końcowymi produktami nityfikacji nie były azotyny, lecz azotyny.

Przyjmując za podstawę wyznaczoną stałą kinetyki reakcji (K_m) autorzy obliczyli teoretycznie, że przy stężeniu tlenu rozpuszczonego w reaktorze 0,5 $\text{mg O}_2 \cdot \text{dm}^{-3}$, szybkość nityfikacji i denitryfikacji będą liczbowo równe. W wyniku jednoczesnej nityfikacji i denitryfikacji w fazie napowietrzania,

w reaktorze SBR nastąpi całkowite usunięcie azotu. Wymagany czas reakcji ulegnie wydłużeniu do 5,7 h (czas potrzebny do uzyskania całkowitej nityfikacji wynosił 3 h).

Podobne wnioski wynikają z badań innych autorów. Zdaniem Goreau i wsp. (37) obniżenie stężenia tlenu w hodowli z 7 do 0,18 mg O₂ · dm⁻³ spowodowało 7,2-krotny spadek szybkości wytwarzania azotynów przez *Nitrosomonas*. Jednocześnie o ok. 30% obniżyła się szybkość wzrostu komórek.

Z badań własnych autorki prowadzonych w oczyszczalni ścieków w gminie Świątki (woj. olsztyńskie) wyposażonej w reaktory SBR wynika, że szybkość utlenienia azotu amonowego w warunkach limitowanego stężenia tlenu w osadzie czynnym ulega ok. trzykrotnemu obniżeniu w porównaniu z szybkością uzyskiwaną dla podobnych obciążeń osadu czynnego w warunkach tlenowych (dane nie publikowane).

Również szybkość nityfikacji heterotroficznej jest mała. Według Robertson i wsp. (26) szybkość utleniania związków organicznych zawierających azot w wyniku heterotroficznej nityfikacji jest rzędu 0,8 – 90 nmol NH₃ · min⁻¹ · mg⁻¹smo, podczas gdy w warunkach tlenowych szybkość utlenienia amoniaku przez *Nitrosomonas* sp. 590 – 2300 nmol NH₃ · min⁻¹ · mg⁻¹smo.

5. Podsumowanie

Możliwość utleniania azotu amonowego i równoczesnej redukcji powstających produktów w pojedynczym reaktorze jest korzystna. Zapewnia bowiem wysoką sprawność usunięcia związków azotu w osadzie czynnym. Poprzez eliminację azotanów w układzie pozwala na obniżenie zapotrzebowania związków organicznych na proces denityfikacji. W konsekwencji prowadzi do zwiększenia efektywności usuwania fosforu w ściekach.

Z przeglądu literatury wynika celowość prowadzenia bardziej szczegółowych badań kinetyki równoczesnej nityfikacji i denityfikacji. Dotyczy to zwłaszcza procesów zachodzących w warunkach zimowych. Z nielicznych danych wynika bowiem, że szybkość utleniania związków azotu amonowego przy ograniczonym stężeniu tlenu rozpuszczonego jest mała.

Niewiele też wiadomo o produktach końcowych równoczesnej nityfikacji i denityfikacji. Uniemożliwia to podejmowanie skutecznych działań w zakresie ograniczania emitowanych tlenków azotu w oczyszczalniach ścieków. Z tego powodu szczegółowe opracowanie technologii z równoczesną nityfikacją i denityfikacją wymaga jeszcze ciągle wykonania wielu eksperymentów, jak również systematycznej weryfikacji wyników w pełnej skali technicznej.

Literatura

1. Comeau Y., Hall K. J., Hancock R. E. W., Oldham W. K., (1986), *Wat. Res.*, 20, 1511-1521.
2. Gerber A., de Villiers R. H., Mostert E. S., van Riet C. J. J., (1987), *The phenomem of simultaneous phosphate uptake and release, and its importance in biological nutrient*

- removal, in: *Adv. Water Poll. Control.: Biological phosphate removal from wastewaters*, 4, Ed. Ramadori R., Pergamon Press, Oxford, 123-134.
3. Hascoet M. C., Florentz M., Granger P., (1985), *Wat. Sci. Technol.*, 17, 23-41.
 4. Kuba T., Wachtmeister A., van Loosdrecht M. C. M., Heijnen J. J., (1994), *Wat. Sci. Technol.*, 30, 263-269.
 5. Wachtmeister A., Kuba T., van Loosdrecht M. C. M., Heijnen J. J., (1997), *Wat. Res.*, 31, 471-478.
 6. Lie E., Welander T., (1994), *Wat. Sci. Technol.*, 30, 91-100.
 7. Schön G., Geywitz S., Mertens F., (1993), *Wat. Res.*, 27, 349-354.
 8. Wanner J., (1994), *Activated sludge bulking and foaming control*, A Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, Pennsylvania.
 9. Bock E., Schmidt I., Stüven R., Zart D., (1995), *Arch. Microbiol.*, 163, 16-20.
 10. Remde A., Conrad R., (1990), *Arch. Microbiol.*, 154, 187-191.
 11. Stüven R., Vollmer M., Bock E., (1992), *Arch. Microbiol.*, 158, 439-443.
 12. Kumaran P., Shivaraman N., (1988), *Biological treatment of toxic industrial wastes*, in: *Biotreatment systems*, Ed. Wise D. L., CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 227-285.
 13. McKenney D. J., Shuttleworth K. F., Vriesacker J. R., Findlay W. I., (1982), *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 534-541.
 14. Abeliovich A., (1987), *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 754-760.
 15. Abeliovich A., Vonshak A., (1992), *Arch. Microbiol.*, 158, 267-270.
 16. Graaf van de A. A., Mulder A., Bruijn de P., Jetten M. S. M., Robertson L. A., Kuenen J. G., (1995), *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 1246-1251.
 17. Miller D. J., Nicholas D. J. D., (1985), *J. Gen. Microbiol.*, 131, 2851-2854.
 18. Sundermeyer-Klinger H., Meyer W., Warninghoff B., Bock E., (1984), *Arch. Microbiol.*, 140, 153-158.
 19. Bock E., Wilderer P. A., Freitag A., (1988), *Wat. Res.*, 22, 245-250.
 20. Castignetti D., Hollocher T. C., (1982), *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 923-928.
 21. Castignetti D., Hollocher T. C., (1984), *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 620-623.
 22. Johansson C., Galbally I. E., (1984), *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1284-1289.
 23. Papen H., von Berg R., Hinkel I., Thoene B., Rennenberg H., (1989), *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 2068-2072.
 24. Schmiel J. P., Firestone M. K., Killham K. S., (1984), *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 802-806.
 25. Anderson I. C., Poth M., Homstead J., Burdige D., (1993), *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 3525-3533.
 26. Robertson L. A., Niel van E. W. J., Torremans R. A. M., Kuenen J. G., (1988), *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 2812-2818.
 27. Schroeder E. D., (1985), *Nitrification in activated sludge processes*, in: *Comprehensive Biotechnology*, 4, *The Practice of Biotechnology: Speciality Products and Service Activities*, Ed. Mao-Young M. Pergamon Press, Oxford, 871-880.
 28. Metcalf and Eddy, (1995), *Wastewater Engineering. Treatment, Disposal, Reuse*, McGraw-Hill, New York.
 29. Błaszczuk M., Mycielski R., Jaworowska-Deptuch H., Brzostek K., (1980), *Acta Microbiol. Pol.*, 29, 397-406.
 30. Błaszczuk M., (1983), *Acta Microbiol. Pol.*, 32, 65-71.
 31. Grabińska-Loniewska A., (1990), *Wpływ wybranych związków węgla na kształtowanie się biocenozy w procesie usuwania azotu metodą denitryfikacji*, Wyd. PW, Warszawa.
 32. Kavanaugh R. G., Randall C. W., (1994), *Wat. Sci. Technol.*, 29, 25-34.
 33. Henze M., (1992), *Wat. Sci. Technol.*, 25, 1-15.
 34. Henze M., Gujer M., Mino T., Matsuo T., Wentzel M. C., Marais G. v. R., (1995), *Wat. Sci. Technol.*, 31, 13-23.
 35. Turk O., Mavinic D. S., (1989), *J. Wat. Poll. Control Fed.*, 6, 1440-1447.
 36. Münch E. V., Lant P., Keller J., (1996), *Wat. Res.*, 30, 277-284.
 37. Goreau T. J., Kaplan W. A., Wofsy S. C., McElroy M. B., Valois F. W., Watson S. W., (1980), *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 526-532.

Mechanisms and kinetics of nitrification and denitrification in low dissolved oxygen concentration

Summary

Literature was reviewed on oxidation mechanism of ammonia nitrogen in oxygen concentration limited and anoxic conditions. It was observed that chemolithotrophic bacteria of *Nitrosomonas* genus oxidising ammonia nitrogen may use ammonium as a donor of electrons and simultaneously oxygen and nitrite as electron acceptors. The products of ammonia nitrogen oxidation, except nitrates, are hydroxylamine, nitrogen oxides and molecular nitrogen. Mechanisms of the process are presented. The process of heterotrophic nitrification is characterised. Factors stimulating the process of simultaneous nitrification and denitrification in activated sludge as well as the stoichiometry and reaction kinetics of the process were analysed. Finally, the currently emerging research trends were presented.

Key words:

nitrification, simultaneous nitrification and denitrification, heterotrophic nitrification, chemical denitrification, nitrogen oxides, hydroxylamine.

Adres do korespondencji:

Ewa Klimiuk, Katedra Chemii i Technologii Wody i Ścieków, Akademia Rolniczo-Techniczna, 10-957 Olsztyn-Kortowo.