

## EFFECT OF ORGANIC SUBSTRATE ON REMOVAL OF NITRATES FROM INDUSTRIAL WASTEWATER

### VLIV ORGANICKÉHO SUBSTRÁTU NA PRŮBĚH ODSTRAŇOVÁNÍ DUSIČNANŮ Z PRŮMYSLOVÝCH ODPADNÍCH VOD

**Evelína Erbanová, Jana Vlačíhová, Jiří Palarčík, Miloslav Slezák, Petr Mikulášek**  
*University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Studentská 95, 532 10 Pardubice,  
Czech Republic, e-mail: evelina.erbanova@upce.cz*

#### **Abstract:**

This paper deals with the treatment of industrial wastewater using activated sludge. Attention was paid to the organic substrate, as one of the most important factors that determine the denitrification process. Three kinds of substrate were used - methanol, ethanol and glucose, and the effect of the type and quantity of the substrate to the denitrification process in an activated sludge were investigated. Experiments have shown that the response of the activated sludge to a particular substrate is mainly dependent on the composition of the substrate on which the sludge was grown. It was also shown that increasing the amount of substrate also increases the efficiency of wastewater treatment.

#### **Keywords:**

Removal of nitrates, denitrification, activated sludge, organic substrate, methanol, ethanol, glucose, wastewater treatment

#### **Abstrakt:**

Tento příspěvek se zabývá čištěním průmyslových odpadních vod pomocí aktivovaných kalů. Pozornost byla věnována především organickému substrátu, jakožto jednomu z nejdůležitějších faktorů, které určují proces denitrifikace. K experimentům byly použity tři druhy substrátu – methanol, ethanol a glukóza, přičemž byl zkoumán vliv druhu a množství substrátu na průběh denitrifikace v aktivovaném kalu. Experimenty prokázaly, že reakce aktivovaného kalu na konkrétní substrát závisí hlavně na složení substrátu, na němž byl daný kal vypěstován. Dále bylo prokázáno, že se zvyšujícím se množstvím substrátu roste i dosažitelná hodnota účinku čištění odpadní vody.

#### **Klíčová slova:**

Odstraňování dusičnanů, denitrifikace, aktivovaný kal, organický substrát, methanol, ethanol, glukóza, čištění odpadních vod

#### **Úvod**

Čištění odpadních vod pomocí aktivovaných kalů patří mezi nepoužívanější a nejuniverzálnější procesy vůbec. Princip biologického čištění aktivací spočívá ve vytvoření aktivovaného kalu v provzdušňované aktivační nádrži. Aktivační a v návaznosti na ni dosazovací nádrž jsou provozovány převážně jako kontinuálně protékané jednotky, při čemž aktivační nádrž je průběžně aerována. Aeraci se současně udržuje aktivační směs ve vzhledu. Při požadované denitrifikaci dusičnanů se do průtočného profilu odpadní vody zařazuje neprovzdušňovaná anoxická zóna (Malý a Hlavínek, 1996). Biochemické dráhy denitrifikace zahrnují postupnou přeměnu dusičnanových iontů až na molekulární dusík. Tato přeměna se skládá z redukce dusičnanových iontů ( $\text{NO}_3^-$ ) na ionty dusitanové ( $\text{NO}_2^-$ ), dusitanových iontů na oxid dusnatý (NO), konverze oxidu dusnatého na oxid dusný ( $\text{N}_2\text{O}$ ) a konverze oxidu dusného na molekulární dusík ( $\text{N}_2$ ) (Nancharaiyah and Venugopalan, 2011; Xie et al., 2010; Zhang and Zhou, 2007). Některé denitrifikační bakterie uvolňují během denitrifikace všechny tři meziprodukty, zatímco ostatní bakterie mohou uvolňovat pouze jeden, dva či žádný z meziproduktů. Např. k hromadění dusitanů dochází zejména v průběhu denitrifikačních procesů, které jsou nedostatečně zásobené zdrojem uhlíku (Adav et al., 2010). Byla studována i možná souvislost mezi akumulací dusitanů a použitým zdrojem uhlíku (Ge et al., 2012).

Právě přítomnost organického substrátu je považována za nejdůležitější faktor ovlivňující průběh denitrifikace. Denitrifikační bakterie mohou jako zdroj uhlíku využívat organické sloučeniny běžně se

vyskytující v odpadní vodě (tzv. interní zdroj). Při deficitu interních zdrojů organického uhlíku se do vody přidávají externí zdroje ve formě snadno biologicky rozložitelných organických látek (např. methanol, ethanol, kyselina octová, glukóza či melasa) (Pitter, 2009). Přidáním externího zdroje se zkracuje reakční doba, čímž se snižuje i hydraulický retenční čas v anoxických zónách (Hallin, 1996).

Byla již provedena řada studií zabývajících se vlivem používaných zdrojů uhlíku v procesu odstranění dusičnanů. Přehledně je shrnují např. Naik and Setty (2012). Srinandan et al. (2012) porovnal účinnost denitrifikace s nejčastěji používanými substráty v následujícím pořadí: acetát > glukóza > methanol > ethanol. Systém s přídatkem acetátu odstraňuje  $\text{NO}_3^-$  téměř se 100% účinností se zanedbatelnou akumulací  $\text{NO}_2^-$ . Přestože glukóza poskytuje účinnost 99 %, dochází k podstatnému nahromadění  $\text{NH}_3^+$  a  $\text{NO}_2^-$  v systému. S použitím methanolu bylo dosaženo 72% účinnosti opět s akumulací  $\text{NO}_2^-$  a ethanol poskytoval účinnost 61 % s pozorovaným zvýšením počtu denitrifikačních bakterií. Acetát označuje za nejvhodnější zdroj uhlíku i Wilawan et al. (2010), ačkoli obecně je z ekonomických důvodů nejpoužívanějším substrátem methanol (Naik and Setty, 2012). Adaptace denitrifikačních bakterií na methanol je však výrazně delší než u ostatních substrátů, např. na acetát reagují bakterie okamžitě (Hallin, 1996). Kvalitativní a kvantitativní složení aktivovaného kalu a s tím související denitrifikační účinnost závisí hlavně na složení substrátu, na němž byl daný kal vypěstován (Chudoba et al., 1991). Experimenty s přídatkem různých substrátů do systémů s kaly adaptovanými na methanol a ethanol prováděli ve své studii Hallin and Pell (2008).

## **Metodika**

### ***Vliv substrátu na účinnost denitrifikace***

Experimenty byly prováděny v dvoulitrových odměrných válcích, do kterých bylo odměřeno 400 ml aktivovaného kalu (AK). Byly použity tři druhy aktivovaných kalů, přičemž první dva kaly pocházely ze dvou klasických biologických čistíren odpadních vod (dále označovány jako AK z BČOV 1 a AK z BČOV 2) a třetí kal pocházel z denitrifikační jednotky ČOV Pardubice, zaměřené na odstraňování dusičnanů (vypěstován na ethanolu, jakožto základním organickém substrátu). Válce byly následně doplněny destilovanou vodou, do které byly přidány dusičnany o výchozí koncentraci  $\text{NO}_3^-$   $100 \text{ mg.l}^{-1}$  (po vyčerpání opět doplněna), organický substrát (methanol, ethanol či glukóza) o koncentraci  $90 \text{ mg.l}^{-1}$  CHSK, a fosfor ve formě  $\text{PO}_4^{3-}$ , jehož koncentrace byla udržována na konstantní hodnotě  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Experimenty byly prováděny při laboratorní teplotě. Ve válcích byly kromě obsahu  $\text{NO}_3^-$ , CHSK a P sledovány i parametry denitrifikace, jako je oxidačně-redukční potenciál (ORP), pH, hodnoty rozpuštěného kyslíku a teplota.

### ***Vliv množství substrátu na průběh denitrifikace***

Experimenty byly prováděny opět ve skleněných dvoulitrových odměrných válcích, do nichž bylo předloženo 200 ml aktivovaného kalu z denitrifikační jednotky ČOV Pardubice. Modelová odpadní voda obsahovala  $100 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{NO}_3^-$  (po vyčerpání opět doplněno), fosfor ve formě  $\text{PO}_4^{3-}$ , jehož koncentrace byla udržována na konstantní hodnotě  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  a organický substrát ve formě ethanolu o výchozí koncentraci CHSK  $70 \text{ mg.l}^{-1}$ , která byla průběžně doplňována, případně navyšována. Experimenty byly prováděny při laboratorní teplotě. Ve válcích byly kromě obsahu  $\text{NO}_3^-$ , CHSK a P sledovány i parametry denitrifikace jako je ORP, pH, hodnoty rozpuštěného kyslíku a teplota.

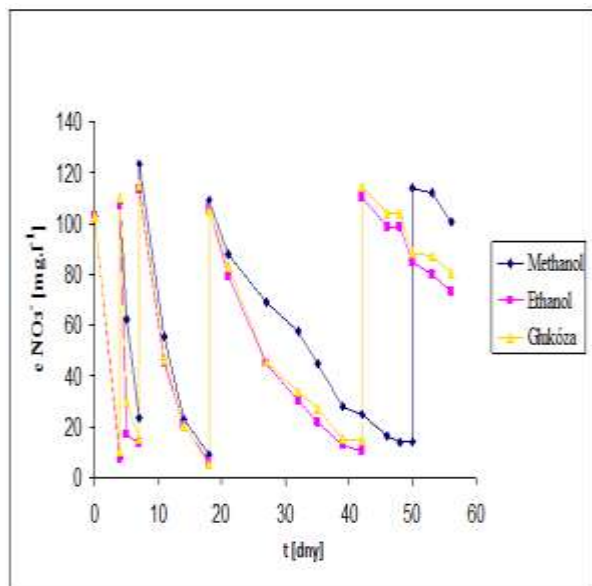
### ***Analytické metody***

Ke stanovení dusičnanů byla používána spektrometrická metoda s kyselinou sulfosalicylovou dle ČSN ISO 7890-3, případně absorpční stanovení v UV oblasti, pro stanovení CHSK byly použity kyvetové testy LANGE LCK 514 (rozsah detekce  $100 - 2\,000 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a LCK 314 ( $15 - 150 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a obsah fosforu byl stanovován pomocí optického emisního spektrometru s buzením v indukčně vázaném plazmatu (ICP OES) GBC Integra XL. Pro měření rozpuštěného kyslíku byl použit oximetr Hanna HI 9146 s příslušenstvím, pro měření redox potenciálu a pH bylo použito přenosné měřidlo Hach Lange řady HQ 30d se sondami Intellical – ORP/redox sonda MTC 101103 a pH sonda PHC 101-03.

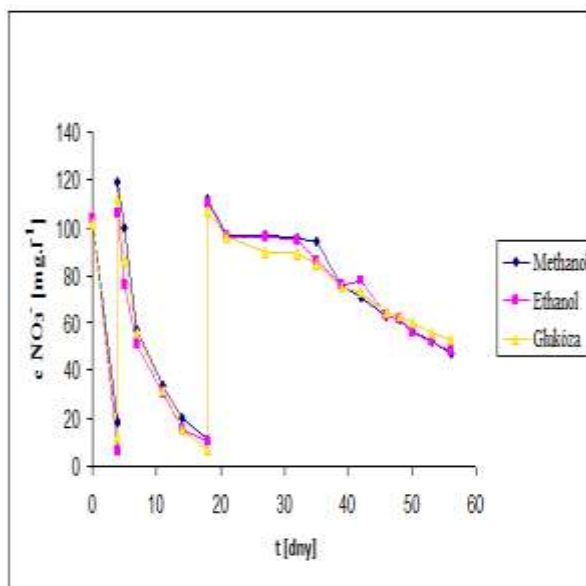
## Výsledky a diskuse

### *Vliv substrátu na účinnost denitrifikace*

V systému s aktivovaným kalem pocházejícím z BČOV 1, kde byl jako substrát použit methanol, bylo během 56 dnů odstraněno celkem 402,3 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Systém s ethanolem dokázal celkově odstranit 430,22 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a systém s glukózou 422,14 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Z naměřených hodnot a grafické závislosti na obr. 1 vyplývá, že v tomto případě byl nejvhodnějším substrátem pro denitrifikaci ethanol, následovaný glukózou, nejméně vhodným substrátem pro tento konkrétní typ aktivovaného kalu byl pak methanol.



**Obr. 1:** Porovnání substrátů v systému AK z BČOV 1



**Obr. 2:** Porovnání substrátů v systému AK z BČOV 2

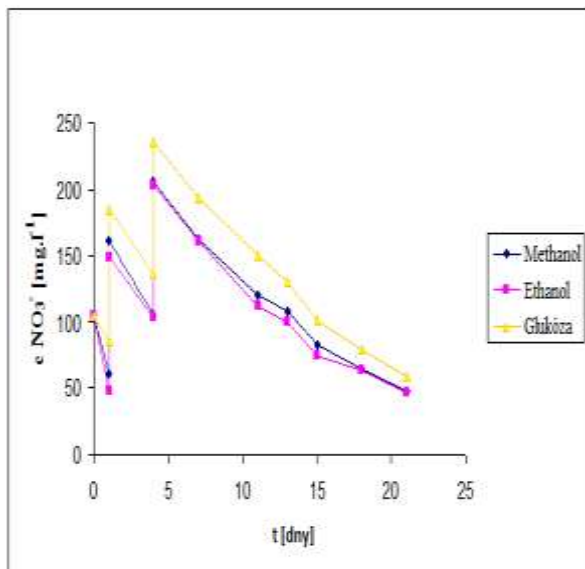
V systému s aktivovaným kalem pocházejícím z BČOV 2 bylo za použití methanolu jakožto organického substrátu odstraněno během 56 dnů celkem 256,15 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Systém s ethanolem dokázal celkově odstranit 255,88 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a systém s glukózou 248,28 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Z naměřených hodnot a z grafické závislosti na obr. 2 vyplývá, že jsou si tři použité substráty z hlediska odstraňování dusičnanů téměř rovny. Na počátku experimentu se jako nejvhodnější organický substrát pro tento druh aktivovaného kalu jevil ethanol. Po určité akumulaci době (39 dnů) se z hlediska odstraňování dusičnanů nepatrně lépe projevil methanol.

Aktivovaný kal z denitrifikační jednotky ČOV Pardubice dokázal s organickým substrátem ve formě methanolu odstranit z modelové odpadní vody během 21 dnů 256,17 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Za stejnou dobu dokázal systém s ethanolem celkově odstranit 258,2 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a systém s glukózou 245,34 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Z grafické závislosti na obr. 3 vyplývá, že pro tento aktivovaný kal byl nejvíce vhodným substrátem ethanol, následovaný methanolem. Jako nejméně vhodný substrát pro tento typ kalu se jevila glukóza.

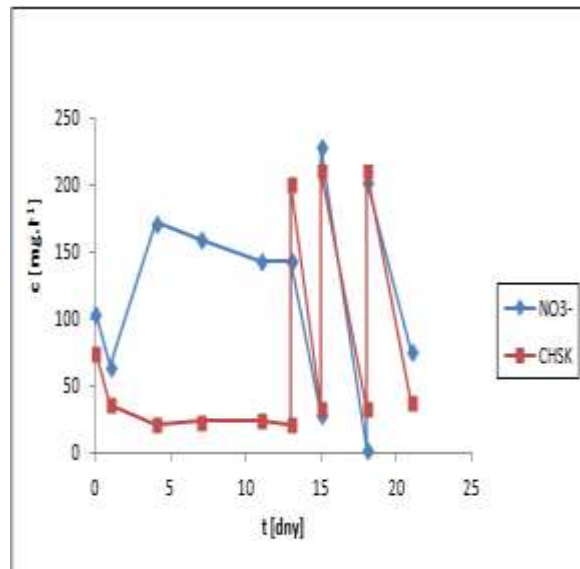
### *Vliv množství substrátu na průběh denitrifikace*

Z obr. 4, na němž je znázorněn průběh hodnot NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a CHSK během denitrifikace vyplývá, že s rostoucím množstvím organického substrátu roste i dosažitelná hodnota účinku čištění odpadní vody. Počáteční koncentrace NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 104,39 mg.l<sup>-1</sup> poklesla během jednoho dne o 39,82 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, přičemž byl organický substrát snížen o 38,53 mg.l<sup>-1</sup> CHSK. Při navýšení organického substrátu vyjadřovaného jako CHSK na 201,66 mg.l<sup>-1</sup> došlo během následujících dvou dnů k odstranění 114,69 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a 168,55 mg.l<sup>-1</sup> CHSK. 15. den experimentu byla v modelové odpadní vodě navýšena koncentrace NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na 228,46 mg.l<sup>-1</sup> a koncentrace organického substrátu na 213,91 mg.l<sup>-1</sup>. Během tří dnů došlo k odstranění 225,31 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a 181,15 mg.l<sup>-1</sup> CHSK.

Množství odstraněného organického substrátu souvisí i s množstvím biomasy, která v systému nově vznikne. Čím bylo zatížení aktivovaného kalu vyšší, tím byla vyšší i specifická produkce biomasy, takže byly vyšší i nároky na množství nutrientů (N a P) v systému. Při odstraňování navýšeného množství organického substrátu došlo v experimentálním systému k nárůstu sušiny biomasy z 1,5376 g na 5,02 g, což je nárůst přibližně o 226 %.



**Obr. 3:** Porovnání substrátů v systému AK z denitrif. jednotky ČOV Pardubice



**Obr. 4:** Závislost koncentrace  $\text{NO}_3^-$  a CHSK v průběhu denitrifikace

### Závěr

Experimenty týkající se vlivu jednotlivých substrátů (methanolu, ethanolu, glukózy) na různé aktivované kaly prokázaly, že nejde jednoznačně určit nejvhodnější typ substrátu, který by se dal aplikovat na všechny druhy aktivovaných kalů. To, jak bude daný aktivovaný kal na substrát v systému reagovat, závisí hlavně na počátečním složení substrátu, na němž byl daný kal vypěstován (příp. na složení přitékající odpadní vody). Při výběru substrátu je ovšem také nutné zohlednit ekonomické hledisko, které je často limitujícím faktorem použitých kultivačních podmínek (ethanol je pro některé ČOV jako substrát značně nákladný).

Z našich experimentů vyplývá, že v systémech s aktivovanými kaly pocházejícími z BČOV 1 a denitrifikační jednotky ČOV Pardubice byl nejvhodnějším substrátem právě ethanol, v systému s aktivovaným kalem pocházejícím z BČOV 2 se po určité době nepatrně lépe projevil methanol, i když účinnosti všech tří substrátů byly v průběhu experimentu s tímto druhem aktivovaného kalu prakticky vyrovnané. Při zkoumání vlivu množství substrátu (ethanolu) na průběh denitrifikace byl použit systém s aktivovaným kalem pocházejícím z denitrifikační jednotky ČOV Pardubice. Z experimentálních výsledků vyplývá, že s rostoucím množstvím organického substrátu roste i dosažitelná hodnota účinku čištění odpadní vody a množství odstraněného organického substrátu souvisí i s množstvím biomasy, která v systému nově vznikne. Čím bylo totiž zatížení aktivovaného kalu vyšší, tím byla vyšší i specifická produkce biomasy.

### Poděkování

Tato práce vznikla za finanční podpory SGFChT 05/2013.

### Literatura:

Adav S.S., Lee D.J., Lai J.Y. 2010. Enhanced biological denitrification of high concentration of nitrite with supplementary carbon source. Appl. Microbiol. Biotechnol. 85, pp. 773–778.

Chudoba J., Dohányos M., Wanner J. 1991. Biologické čištění odpadních vod. SNTL Praha, ISBN 80-03-00611-2.

Ge S., et al. 2012. Nitrite accumulation under constant temperature in anoxic denitrification process: The effects of carbon sources and COD/NO<sub>3</sub>-N. *Bioresource Technology* 114, pp. 137–143.

Hallin S., Pell M. 1998. Metabolic properties of denitrifying bacteria adapting to methanol and ethanol in activated sludge. *Water Research* 32 (1), pp. 13-18.

Hallin S., Rothman M., Pell M. 1996. Adaptation of denitrifying bacteria to acetate and methanol in activated sludge. *Water Research* 30 (6), pp. 1445-1450.

Malý J., Hlavínek P. 1996. Čištění průmyslových odpadních vod. Brno : Noel 2000 s.r.o., ISBN 80-86020-05-3.

Naik S. a Setty Y. P.: Biological denitrification of wastewater-A Mini Review on Carbon Source. International Conference on Chemical, Environmental Science and Engineering (ICEEBS'2012) July 28-29, 2012 Pattaya (Thailand).

Pitter P. 2009: Hydrochemie. 4. akt. vydání, Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN 978-80-7080-701-9.

Nancharaiah Y. V., Venugopalan V. P. 2011. Denitrification of synthetic concentrated nitrate wastes by aerobic granular sludge under anoxic conditions. *Chemosphere* 85, pp. 683–688.

Srinandan C. S., et al. 2012. Carbon sources influence the nitrate removal activity, community structure and biofilm architecture. *Bioresource Technology* 117, pp. 292–299.

Xie W.-M., et al. 2010. Formation of soluble microbial products by activated sludge under anoxic conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87, pp. 373–382.

Zhang P., Zhou Q. 2007. Simultaneous nitrification and denitrification in activated sludge system under low oxygen concentration. *Front. Environ. Sci. Engin. China* 1, pp. 49–52.