



Defensa de Tesi Doctoral de **Tiago Vitor Akabocci**

Operational strategies towards nitrification-anammox implementation for mainstream municipal wastewater treatment

Directors: Dr Jesús Colprim, Dr Maël Rusalleda and Dr Maria Dolors Balaguer

Monday 15th July 2019, 12:00h

Campus Montilivi, Sala d'Actes de l'edifici LEAR, Universitat de Girona



Abstract

One of the main challenges of urban wastewater treatment plants (WWTPs) is to remove nitrogen compounds in a sustainable way. Nitrogen is necessary for plants growth but when rejected in excess it causes water pollution and alters aquatic ecosystems. In conventional WWTPs of the XX century nitrogen was mostly eliminated through the combined action of two types of bacteria. One of them, the nitrifiers, utilise oxygen to oxidise ammonium oxygen into nitrite, which is in turn oxidised into nitrate. The second group of bacteria, the denitrifiers, convert these oxidised forms of nitrogen into dinitrogen gas by oxidising organic matter, which acts as electron donor. However, the demand of resources and energy of both treatments is very high: nitrification requires aeration and denitrification needs the supply of an external source of organic matter.

The discovery of **Anammox** bacteria in 1995 changed our understanding of the nitrogen cycle and shed some light on the way wastewater treatment plants could increase their sustainability. Unlike the aforementioned nitrifiers, Anammox bacteria are able to perform the autotrophic oxidation of ammonium. The most applied configuration of Anammox process is “partial nitrification-anammox” (PNA), where nearly half influent ammonium is converted to nitrite by ammonia-oxidizing bacteria (AOB), and the remaining ammonium is oxidized by anammox bacteria (AnAOB), which uses nitrite as electron acceptor and does not need oxygen. By following this approach, anammox has been credited as a viable technology to achieve energy-neutral wastewater treatment plants and improve resource efficiency. Compared to the conventional nitrification-denitrification processes, the association partial nitrification-anammox requires less oxygen, which reduces aeration costs; diminishes sludge production; and organic matter is no longer needed to remove nitrogen.

Anammox-based processes have been already applied to treat reject water in the sidestream line of urban WWTP, with high nitrogen content and low C:N. However, in the recent years, it has increased the interest in applying **anammox-based processes in the mainstream line**, which accounts for the majority of nitrogen. The application of autotrophic nitrogen removal by PNA has still some technical challenges to face, such as low anammox growth rate, mainly at low temperature conditions, and the repression of nitrification process. The doctoral thesis by Tiago Vitor Akabocci, entitled “**Operational strategies towards nitrification-anammox implementation for mainstream municipal wastewater treatment**” has studied new operational strategies to deal with the challenges aforementioned, in order to achieve stable PNA at mainstream urban WWTP. Thus, [Tiago Vitor Akabocci](#) investigated the following parameters: (i) extremely low dissolved oxygen (DO); (ii) effects of temperature; (iii) influence of different IC:N ratios; and (iv) different reactors configurations (sequencing batch (SBR) and plug-flow reactor).

Results showed that by controlling DO at extremely low levels, average nitrogen removal of 0.37 ± 0.07 kg N·m⁻³·d⁻¹ is achieved at 25 °C. The researcher also demonstrated that low DO is not sufficient for complete nitrification repression, because nitrite-oxidizing bacteria (NOB) account for limiting nitrate production, reducing the potential to achieve higher removal efficiencies. After decreasing the temperature operation to 15 °C, PNA processes were stable for several days, but at long-term operation anammox activity was reduced, and it limited nitrogen removal. Tiago Vitor Akabocci also studied bacterial community by high-throughput molecular techniques. The dominant bacterial groups were clustered within the phyla Planctomycetes, Proteobacteria, Chloroflexi, and Bacteroidetes.

UdG LEQUIA research group has been pioneer in developing and upscaling PNA processes for treating complex effluents. Thesis supervisors **Dr Jesús Colprim**, **Dr Maël Rusalleda** (currently working at Createch360°) and **Dr Maria Dolores Balaguer**, have applied the Anammox process in urban wastewater treatment plants' effluents and in urban landfill leachates. This doctoral thesis, funded by a scholarship awarded by the Brazilian government, goes a step further to benefit from the high potential of Anammox bacteria to adjust nitrogen content in water effluents in a sustainable way. The defence, which is open to the public, will take place on Monday 15th July 2019 at UdG LEAR building in Campus Montilivi (Sala d'Actes).

Resum

Un dels reptes principals de les estacions depuradores d'aigües residuals urbanes (EDARs) és eliminar compostos de nitrogen d'una manera sostenible. El nitrogen és necessari per al creixement de les plantes però si s'aboca en excés provoca la contaminació de les aigües i altera els ecosistemes aquàtics. En les EDARs convencionals del segle XX el nitrogen s'eliminava de manera majoritària a través de l'acció combinada de dos tipus de bacteris. Un grup, els dels nitrificants, utilitza oxigen per a oxidar l'amoni a nitrit, que a la vegada s'oxida a nitrat. El segon grup, el dels bacteris desnitrificants, converteix aquestes formes oxidades del nitrogen en nitrogen gas a través de l'oxidació de la matèria orgànica, que actua com a donant d'electrons. Tanmateix, ambdós tractaments presenten una alta demanda de recursos i d'energia: la nitrificació requereix aeració i la desnitrificació requereix l'addició externa de matèria orgànica.

El descobriment dels bacteris **Anammox** el 1995 va canviar la nostra comprensió del cicle del nitrogen i va obrir un nou camí per a incrementar la sostenibilitat de les depuradores d'aigües residuals. A diferència dels bacteris nitrificants, els Anammox són capaços de dur a terme l'oxidació autotròfica de l'ió amoni. La configuració més comú d'un procés Anammox és la "nitritació parcial-anammox" (PNA), en al qual gairebé la meitat de l'amoni d'entrada és transformat en nitrit per bacteris oxidants (*ammonia-oxidising bacteria*, AOB) i l'amoni restant és oxidat amb bacteris Anammox (AnAOPB), que utilitzen nitrit com a acceptor d'electrons i no necessiten oxigen. Seguint aquesta estratègia, l'anammox ha estat reconegut com una tecnologia viable per assolir un tractament d'aigües residuals neutre energèticament i amb una millora significativa de l'eficiència en recursos. Així, en comparació amb el procés convencional de nitrificació-desnitrificació, la combinació nitritació parcial-anammox precisa de menys oxigen, amb la consegüent reducció de costos d'aeració; redueix la producció de fangs; i no li cal l'addició de matèria orgànica per a eliminar nitrogen.

Els processos Anammox ja s'han aplicat per tractar aigua abocada a línies secundàries d'EDARs urbanes, amb un alt contingut en nitrogen i un rati C:N baix. No obstant això, en els darrers anys s'ha incrementat l'interès per implementar processos basats en anammox en la línia principal, que conté la majoria del nitrogen. Tanmateix, l'eliminació autotròfica de nitrogen per PNA encara ha d'enfrontar-se a alguns reptes tecnològics importants, com ara un creixement lent dels bacteris anammox (sobretot a baixes temperatures) i la repressió del procés de nitritació. La tesi doctoral "**Operational strategies towards nitritation-anammox implementation for mainstream municipal wastewater treatment**" de [Tiago Vitor Akaboci](#) ha estudiat noves estratègies operacionals per a abordar els reptes esmentats anteriorment amb l'objectiu d'assolir un procés PNA estable en la línia principal d'EDARs urbanes. L'autor ha investigat els paràmetres següents: un contingut molt baix d'oxigen dissolt (OD); l'efecte de la temperatura; la influència de diferents ratis de carboni inorgànic i nitrogen; i la configuració del reactor (*batch* seqüencial o flux de pistó).

Els resultats mostren que amb el control de l'OD a nivells extremadament baixos s'assoleix una eliminació mitjana del nitrogen de $0.37 \pm 0.07 \text{ kg N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ a 25°C. L'investigador ha demostrat que un baix nivell d'OD no és suficient per a una nitritació completa, ja que la producció de nitrat dels bacteris oxidants del nitrit (en anglès, NOB) és limitada i el potencial per assolir eficiències d'eliminació més altes, també. Val a dir que després de disminuir la temperatura operacional a 15°C els processos PNA es van mantenir estables durant uns quants dies, però l'operació de l'activitat anammox a llarg termini es va reduir i va frenar l'eliminació de nitrogen. Tiago Vitor Akaboci també va estudiar la comunitat bacteriana amb tècniques moleculars d'alt rendiment. Els grups bacterians dominants pertanyien als gèneres Planctomycetes, Proteobacteria, Chloroflexi i Bacteroidetes.

El grup de recerca LEQUIA de la UdG ha estat pioner en el desenvolupament i l'escalatge de processos PNA per a tractar efluents complexos. Els supervisors de la tesi, el **Dr. Jesús Colprim**, el **Dr. Maël Rusalleda** (actualment a l'empresa Createch360°) i la **Dra. Maria Dolors Balaguer**, han aplicat el procés Anammox a efluents de depuradores d'aigües residuals urbanes i a lixiviats d'abocador. Aquesta tesis, finançada a través d'una beca del govern el Brasil fa un pas endavant per aprofitar el gran potencial que tenen els bacteris Anammox per ajustar de manera sostenible el contingut de nitrogen en aigües residuals. La defensa, que és pública, tindrà lloc el dilluns 15 de juliol a la sala d'actes de l'edifici LEAR de la Universitat de Girona (Campus Montilivi).

Resumen

Uno de los principales retos de las estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas (EDARs) es eliminar compuestos de nitrógeno de forma sostenible. El nitrógeno es necesario para el crecimiento de las plantas, pero si se vierte en exceso provoca la eliminación de las aguas y altera los ecosistemas acuáticos. En las EDARs convencionales del siglo XX el nitrógeno se eliminaba mayoritariamente a través de la acción combinada de dos tipos de bacterias. Un primer grupo, el de las nitrificantes, utiliza oxígeno para oxidar el amonio a nitrito, que a la vez se oxida a nitrato. El segundo grupo, el de las bacterias desnitrificantes, convierte estas formas oxidadas de nitrógeno en nitrógeno gas a través de la oxidación de la materia orgánica, que actúa como donante de electrones. Sin embargo, ambos tratamientos presentan una alta demanda de recursos y de energía: la nitrificación requiere aeración y la desnitrificación depende de la adición externa de materia orgánica.

El descubrimiento de las bacterias **Anammox** en 1995 cambió nuestra comprensión del ciclo de nitrógeno y abrió un nuevo camino para incrementar la sostenibilidad de las depuradoras de aguas residuales. A diferencia de las bacterias nitrificantes, las Anammox tienen la capacidad de llevar a cabo la oxidación autotrófica del ion amonio. La configuración más común de un proceso Anammox es la "nitrificación parcial-anammox" (PNA), en la cual casi la mitad del amonio de entrada es transformado en nitrito por bacterias oxidantes (*ammonia-oxidising bacteria*, AOB) y el amonio restante es oxidado con bacterias Anammox (AnAOPB), que utilizan nitrito como aceptor de electrones y no precisan de oxígeno. Con la adopción de esta estrategia, el anammox se convierte en una tecnología viable para llevar a cabo un tratamiento de aguas residuales neutro energéticamente y con una mejora significativa de eficiencia en el uso de recursos. Así pues, en comparación con el proceso convencional de nitrificación-desnitrificación, la combinación nitrificación parcial-anammox precisa de menos oxígeno y tiene, por lo tanto, menores costes de aeración; reduce la producción de lodos; y no requiere de la adición de materia orgánica para eliminar nitrógeno.

Los procesos Anammox ya se han aplicado para tratar agua de líneas secundarias de EDARs urbanas, con un alto contenido en nitrógeno y un ratio C:N bajo. No obstante, en los últimos años se ha incrementado el interés por implementar procesos basados en anammox en la línea principal, que contiene la mayoría del nitrógeno. La aplicación de la eliminación autotrófica de nitrógeno por PNA aún debe enfrentarse a algunos retos tecnológicos, como un crecimiento lento de las bacterias anammox, sobre todo a bajas temperaturas, y la represión del proceso de nitrificación. La tesis doctoral "**Operational strategies towards nitritation-anammox implementation for mainstream municipal wastewater treatment**" de [Tiago Vitor Akaboci](#) ha explorado nuevas estrategias operacionales para abordar los retos mencionados anteriormente con el fin de implementar un proceso estable PNA en la línea principal de EDARs urbanas. Concretamente, el autor ha estudiado los siguientes parámetros: un contenido muy bajo de oxígeno disuelto (OD); el efecto de la temperatura; la influencia de distintos ratios de carbono inorgánico y nitrógeno; y la configuración del reactor (*batch* secuencial o flujo de pistón).

Los resultados muestran que con el control del OD a niveles muy bajos se consigue una eliminación promedio del nitrógeno $0.37 \pm 0.07 \text{ kg N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ a 25°C. El investigador ha demostrado que un bajo nivel de DO no es suficiente para una nitrificación completa, ya que la producción de nitrato de las bacterias oxidantes del nitrito (en inglés, *NOB*) es limitada y el potencial para alcanzar eficiencias de eliminación más altas, también. Cabe señalar que después de disminuir la temperatura operacional a 15°C los procesos PNA se mantuvieron estables durante unos cuantos días, pero la operación de la actividad anammox a largo plazo se redujo frenando así la eliminación de oxígeno. Tiago Vitor Akaboci también estudió las comunidades bacterianas con técnicas moleculares de alto rendimiento, que pertenecen a los géneros Planctomycetes, Proteobacteria, Chloroflexi y Bacteroidetes.

El grupo de investigación LEQUIA de la UdG ha sido pionero en el desarrollo y escalado de procesos PNA para tratar efluentes complejos. Los supervisores de la tesis, el **Dr. Jesús Colprim**, el **Dr. Maël Rusalleda** (actualmente en la empresa Createch360°) y la **Dra. Maria Dolores Balaguer**, han aplicado el proceso Anammox a efluentes de depuradora urbana y a lixiviados de vertedero. Esta tesis, financiada a través de una beca del gobierno del Brasil, constituye un paso adelante para aprovechar el gran potencial de las bacterias Anammox para ajustar el contenido de nitrógeno en aguas residuales de modo sostenibles. La defensa, que es pública, tendrá lugar el lunes 15 de julio en la sala de actos del edificio LEAR de la Universitat de Girona (Campus Montilivi).