

DOI: 10.7596/taksad.v1i4

Anammox Bakterilerinin Zenginleştirilmesinde Farklı Dolgu Malzemelerinin Etkisi*

Dilek Özgün¹, Serden Başak², Kevser Cırık², Arzu Kılıç¹,
Dilek Akman¹, Şebnem Özdemir¹, Özer Çınar³

Özet

Anaerobik amonyum oksidasyonu (Anammox) anoksik ortamda amonyumun elektron verici nitritin elektron alıcı olarak azot gazına oksitlendiği proses olarak bilinmektedir. Konvansiyonel nitrifikasyon-denitrifikasyon prosesleriyle karşılaştırıldığında Anammox prosesinde daha az oksijen kullanılmakta ve hiçbir organik madde (metanol, glikoz) içeriğine gerek duyulmamaktadır. Ancak sayılan avantajlarının yanı sıra Anammox bakterilerinin yavaş büyüme oranı (11-30 gün) dezavantajını oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu bakterilerin zenginleştirilme safhasında özellikle kesikli reaktörler ile çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada sürekli olarak işletilen yukarı akışlı reaktörde (UASB-Upflow anaerobic sludge blanket), farklı dolgu malzemeleri kullanılarak hassas ve yavaş büyüyen Anammox bakterilerinin sistemden dışarıya atılmasının engellenmesi amaçlanmaktadır. Sistem yukarı akışlı kolon reaktörde 2 gün hidrolik bekleme süresinde (HRT-Hydraulic retention time) işletilmiştir. Çalışmada seramik taşlar ve Linpor dolgu malzemesi kullanılmıştır. Her iki dolgu malzemesi ile 45 gün işletilen reaktörlerden seramik taşların kullanıldığı reaktörde amonyum azotunun gideriminin hızlı bir şekilde %90'lara ulaştığı gözlenmiştir. Linpor dolgu maddelerinin kullanıldığı reaktörde ise amonyum azotunun giderimi daha yavaş olmuştur. Nitrit azotu ise her iki reaktörde de %90'lara varan giderime ulaşmıştır. Stokiyometrik denkleme göre kıyaslandığında Linporlarda çok fazla miktarda nitrat azotunun oluştuğu

* Bu makale Karabük Üniversitesi tarafından düzenlenmiş olan "Tüketim Toplumu ve Çevre" konulu Ulusal Sempozyumda sunulan tebliğin geliştirilmiş şeklidir.

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Biyomühendislik ve Bilimleri, Kahramanmaraş 46100, Türkiye

² Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş 46100, Türkiye

³ Uluslararası Saraybosna Üniversitesi Biyolojik Bilimler ve Biyomühendislik Programı, Bosna Hersek

görülmüştür. 25 gün sonunda Linporlu reaktörde elde edilen sonuçlarla seramik taş dolgulu reaktördeki sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Anammox, Yukarı Akışlı Reaktör, Hidrolik Bekletme Süresi, Seramik Taş, Linpor

The Effect of Different Filling Materials in Anammox Bacteria Enrichment

Abstract

Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) is a process that ammonium as electron donor is oxidized to nitrogen gas using nitrite as electron acceptor. Compared to conventional nitrification-denitrification processes, this process is used less oxygen and no organic material (methanol, glucose). However, the slow growth rate of Anammox bacteria (11-30 days) is disadvantages. Therefore, batch reactors have been carried out in these bacteria enrichment. In this study continuously operated upflow anaerobic sludge reactor (UASB) using different filling materials disposing of sensitive and slow-growing Anammox bacteria out of the system is purposed. System is operated up-flow column reactor at 2 days hydraulic retention time (HRT). In this study, ceramic stones and Linpor filling material are used. Both filling material reactors are operated in 45 days. Ceramic stones filling reactor is observed quickly reaches 90% were used reactor ammonium removal. The ammonium nitrogen removal was slower in Linpor filling materials reactor. Nitrite removal is reached up to 90% in both the reactor. When compared to the stoichiometric equation in Linpor was composed of large amounts of nitrate. At the end of 25 days the results were similar to ceramic stone filling reactor with Linpor filling material reactors.

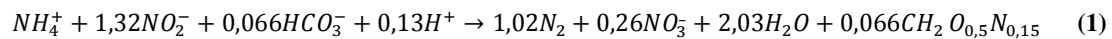
Keywords: Anammox, Upflow Anaerobic Sludge Blanket, Hydraulic Retention Time, Ceramic Stone, Linpor

1. GİRİŞ

Azot ve azotlu maddeler çevre kirliliğinin en önemli sebeplerindendirler. Bu maddeler atık sularda fazla bulunmaları nedeniyle deşarj edilmeden önce arıtılmazlar ise; ötrofikasyon gibi sorunlara neden olmaktadır (Jin ve ark., 2008). Atık sularda bulunan bu azotlu bileşikler, biyolojik ve fizikokimyasal proseslerle arıtılarak uzaklaştırılmaktadırlar. Biyolojik azot giderim prosesleri; konvansiyonel nitrifikasyon ve denitrifikasyon prosesi olmak üzere iki temel aşamada ele alınmaktadır. Aerobik şartlarda gerçekleşen nitrifikasyon prosesinin ilk

basamağında amonyum, amonyum oksitleyici bakteriler tarafından nitrite, ikinci basamağında ise nitrit, nitrit oksitleyici bakteriler tarafından nitrata yükseltgenmektedir. Anoksik şartlarda fakültatif anaerobik heterotrof denitrifiye bakteriler tarafından gerçekleşen denitrifikasyon prosesinin ilk aşamasında nitrat nitrite, sonraki aşamasında ise nitrit azot gazına indirgenmektedir (Terada ve ark., 2011). Atık sulardan biyolojik azot giderimi fizikokimyasal azot giderimden daha ucuz ve daha yüksek arıtma verimine sahip olduğundan daha sık kullanılmaktadır (Li ve ark., 2010). Bununla beraber, atık sularda kullanılan biyolojik azot giderim prosesleri genellikle yüksek NH_4^+ ve düşük karbon içermektedir. Bu sebeple konvansiyonel denitrifikasyon prosesinde anabolik faaliyetlerin gerçekleşmesi için atık sularda bulunan karbon miktarının yeterli olmaması sebebiyle dışarıdan asetat, glikoz gibi ekstra karbon kaynağı gereklidir. Konvansiyonel nitrifikasyon aşamasında kullanılan oksijen ise ek bir enerjiye neden olmaktadır. Sonuçta bu karbon kaynakları ve gerekli olan enerji işletme maliyetini arttırmaktadır (Noophan ve ark., 2009). Dolayısıyla günümüzde yüksek azot ve düşük karbon içeren atık sularda; yeni, farklı ve daha az maliyet içeren prosesler bulunmaktadır. Bunlar arasında, Anammox (Anaerobic ammonium oxidation - Anaerobik amonyum oksidasyonu), Sharon (Single reactor system for high activity ammonia removal over nitrite - Yüksek miktarda amonyağın nitrit üzerinden dönüşümünü içeren tekli reaktör sistemi), Canon (Complete autotrophic nitrogen removal over nitrite - Nitrit üzerinden tamamen ototrofik yolla azot giderimi), Oland (Oxygen limited autotrophic nitrification and denitrification-Oksijen sınırlı şartlarda ototrofik nitrifikasyon ve denitrifikasyon) gibi prosesler yer almaktadır (Mulder ve ark., 1995, Suneethi ve Joseph, 2011).

Anaerobik şartlar altında amonyumun elektron verici, nitritin elektron alıcı olarak kullanılıp azot gazına yükseltgendiği prosese Anammox prosesi denilmektedir. Bu proseste ara ürün olarak hidrazin ve hidroksilamin açığa çıkmaktadır. Anammox mikroorganizmalarının büyümesinde karbon kaynağı olarak karbondioksit kullanılmaktadır (Van de Graaf ve ark., 1995; Li ve ark., 2010). Bu prosesin stokiyometrisi Denklem (1)'de gösterilmektedir (Strous ve ark., 1998).



Anammox prosesini gerçekleştiren bakterilere ise Anammox bakterileri denilmektedir. Anammox bakterileri, ilk olarak 1995 yılında Delft Teknik Üniversitesi'nde (Hollanda) bir atık su arıtma tesisinde metanojenik reaktör çıkış suyunu arıtan, denitrifikasyon yapan akışkan yataklı reaktörde keşfedilmiştir (Mulder ve ark., 1995). Ancak yaklaşık 30 yıl öncesinde de var olduğu tahmin edilmektedir (Van Hulle ve ark., 2010). İşletim açısından Anammox prosesi, konvansiyonel biyolojik azot giderim prosesleri ile karşılaştırıldığında, ek karbon kaynağı ve havalandırma maliyetine sebebiyet vermediğinden %90 daha fazla kazanç

sağlanmaktadır (Jetten ve ark., 2001; Chamchoi ve Nitisoravut, 2007). Bununla beraber Anammox bakterilerinin zenginleştirme aşaması, düşük büyüme oranı ($0,0027 \text{ h}^{-1}$) ve 11-30 gün arasında oluşma süresi ile uzun zaman almaktadır (Van Niftrik ve ark., 2004).

Anammox bakterileri yavaş ve uzun sürede çoğaldıklarından dolayı, bu çalışmada sürekli olarak işletilen yukarı akışlı kolon reaktörlerde, sistemden bakteri kaçmasını önlemek ve bakterilerin üzerinde çoğalabilmelerini sağlamak için farklı dolgu malzemeleri kullanılmıştır. Çalışma için farklı özelliklere sahip seramik taş ve Linpor dolgu malzemeleri seçilmiştir. Bu dolgu maddelerinin Anammox bakterilerinin zenginleştirilme aşamasında etkileri de incelenmiştir.

2. TASARIM ve YÖNTEM

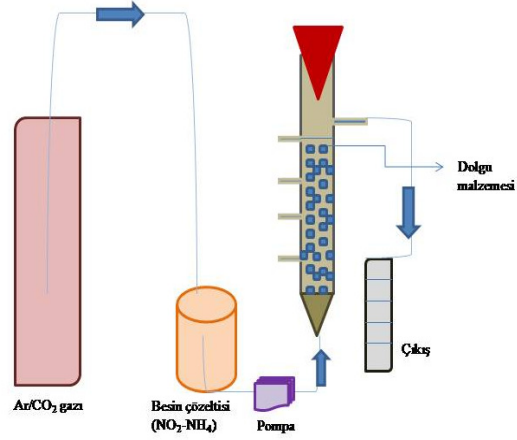
2.1. Tasarım

2.1.1. Sentetik Atık Su

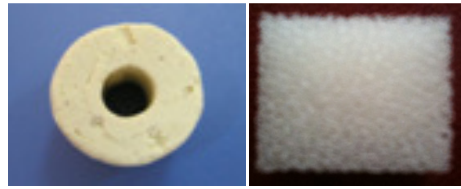
Sentetik atık su, amonyum kaynağı olarak NH_4Cl , nitrit kaynağı olarak NaNO_2 ve çeşitli mineraller ile hazırlanmıştır. Mineral çözeltisi, KHCO_3 1,25 g/L, KH_2PO_4 0,025 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,03 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,02 g/L, FeSO_4 0,00625 g/L, EDTA 0,00625 g/L ve 1,25 g/L iz element solüsyonu içermektedir (Trigo ve ark., 2006). İz element solüsyonu ise (g/L) Van de Graaf ve ark. (1996)'a göre hazırlanmıştır.

2.1.2. Reaktör Dizaynı

Çalışma, camdan yapılmış iki adet kolon reaktörde gerçekleştirilmiştir. Kolon reaktörler sürekli sistemde yukarı akışlı olarak işletilmiştir. Reaktörlerin hacimleri 770 ml, çapları ise 5,5 cm olarak oluşturulmuştur (Şekil 1). UASB'de çıkıştaki olası bakteri kaçmasını engellemek için bir reaktöre seramik taşlar, diğer reaktöre ise Linpor dolgu malzemeleri (Avusturya) eklenmiştir. Seramik taşların hacimleri (100 adet: 254 cm^3), Linpor dolgu malzemelerinin hacimleri ise (150 adet: 246 cm^3) olarak hesaplanmıştır. Seramik taşın ve Linpor dolgu malzemesinin resimleri Şekil 2a ve 2b'de gösterilmiştir. Reaktörlerin, giriş sularının tanklarının ve boruların ışıktan etkilenmemesi için alüminyum folyolarla sarılarak karanlık bir ortam oluşturulmuştur.



Şekil 1. Anammox bakterilerinin zenginleştirilmesi için kullanılan kolon reaktörlerin şematik görünümü



(a)

(b)

Şekil 2. Seramik taş (a), Linpor (b) dolgu malzemeleri

2.1.3. Bakteri Aşılması

Çalışmada kullanılan çamur, Kayseri Eysel Atıksu Arıtma Tesisinin anoksik kısmından aşılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Kolon Reaktörlerin İşletim Parametreleri

Reaktörlerde anaerobik koşulları sağlamak için giriş suyuna Ar/CO₂ (%95/5) gazı verilmiştir. Reaktörlerin hidrolik bekleme süresi 2±0,3 gün olacak şekilde peristaltik pompa (Ismatec 831, Almanya) ile ayarlanmıştır. Çalışma boyunca reaktörden çamur atılmamıştır. Reaktörlerin sıcaklığı 25±3 °C sıcaklıkta sabit tutulmuştur. Bu sıcaklık ısıtıcı kullanılarak ve dijital termometre ile günlük olarak ölçülerek sağlanmıştır. pH ise hem giriş hem de çıkış suyundan WTW Multi 340i (Almanya) pH metre ile ölçülmüştür. Giriş suyunun pH'ı 7, çıkış suyunun pH'ı ise 7,5-8 arasında tutulmaya çalışılmıştır. Bu değerlerin üstünde veya altında pH değeri ile karşılaşıldığında duruma göre 0,5 M HCl veya 0,5 M NaOH solüsyonu ile

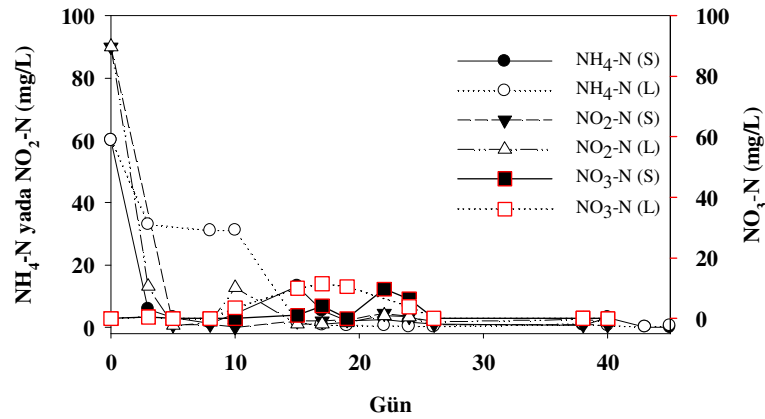
dengelenmiştir. Reaktörlerin beslenmesi ise içlerinde NH_4Cl 60 mg N/L ve NaNO_2 90 mg N/L olacak yapılmıştır.

2.2.2. Analizler

Amonyum konsantrasyonu standart metotlar (APHA, 2005) esas alınarak spektrofotometrede (HACH DR5000, ABD), nitrit ve nitrat konsantrasyonu ise İyon Kromatograf cihazında (ICS-5000, Dionex, Sunnyvale, CA, ABD) ölçülmüştür. Toplam organik karbon ve toplam azot Shimadzu TOC-TN (Japonya) cihazı ile ölçülmüştür.

3. BULGULAR

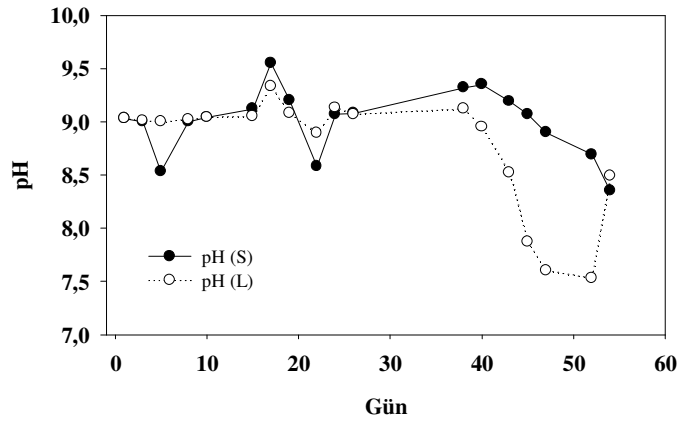
Sistem laboratuvar ölçekli, yukarı akışlı kolon reaktörlerde 45 gün işletilmiştir. Bunlar $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 60 mg/L ve $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 90 mg/L içeren atık su ile beslenmişlerdir. Reaktörlere dışarıdan herhangi bir organik karbon kaynağı verilmemiştir. Şekil 3'te amonyum, nitrit ve nitrat azotlarının değerleri arasındaki profil gösterilmiştir.



Şekil 3. Reaktörlerdeki çıkış nitrit-amonyum-nitrat azotları profilleri

Seramik taşların ve Linpor dolgu malzemesinin kullanıldığı kolon reaktörlerde ilk 5 günde nitrit azotunun giderimi %95'lere ulaşırken, sonraki 5 günde Linpor içeren reaktörde nitrit azotunun gideriminin %89'lara düştüğü görülmektedir. 10 günden sonra hem seramik taşlar hem de Linpor dolgu malzemesi kullanılan kolon reaktörlerde nitrit azotunun giderimi %90'lara ulaşmıştır. Seramik taşların kullanıldığı kolon reaktörde amonyum azotunun gideriminin 7. günden sonra %90'lara ulaştığı, bu giderim oranına Linpor dolgu malzemelerin kullanıldığı kolon reaktörlerde ise 15 günde ulaşıldığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla Linpor dolgu maddelerinin kullanıldığı reaktörde amonyum azotunun giderimi daha yavaş olmuştur. Her iki sistemde de nitrat azotunun oluştuğunun görülmesi hücrel faaliyetin gerçekleştiğini

göstermektedir. Ancak stokiometrik denkleme göre kıyaslandığında Linporlarda çok fazla miktarda nitrat azotunun oluştuğu görülmüştür. Bununla beraber her iki reaktörde de nitrat azotunun oluşması ile ilgili sonuçların 25 gün sonunda stokiometrik denkleme yakın olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla Linpor dolgu malzemesi içeren reaktörde elde edilen sonuçlarla seramik taş dolgulu reaktördeki sonuçların, 25 gün sonunda hem nitrat hem de amonyum ve nitrit azotları açısından sabit koşulları sağladığı bulunmuştur. Şekil 4'te ise seramik ve Linpor dolgu malzemeleri içeren kolon reaktörlerdeki pH değerleri arasındaki karşılaştırma görülmektedir.



Şekil 4. Reaktörlerdeki pH profilleri

Şekil 4'e göre her iki sistemde de pH değerlerinin Anammox bakterilerinin zenginleştirilmesi için gerekli olan değerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Nitrit, amonyum ve nitrat azotunun profillerinin normal olduğu düşünüldüğünde, pH değerinin yüksek olması, anoksik ortamdaki Anammox haricindeki diğer bakterilerin ortamdaki elimine olduğu sonucuna ulaşılmasını sağlamaktadır.

Trigo ve ark. (2006) kesikli biyoreaktörde hollow fiber membran kullanarak Anammox prosesini zenginleştirmişlerdir. Sonrasında tuz konsantrasyonunda değişikliğe gitmişlerdir. Reaktörü +35 °C'de, pH 8'de işletmişler ve tuz konsantrasyonunu 100 mg/L'den 10 mg/L'ye düşürmüşlerdir. Üç farklı sentetik ortam denemişler ve bunlardan kalsiyum ve fosfor oranı düşük olan sistemde aktivitenin daha hızlı bir şekilde geliştiğini gözlemlemişlerdir. Bu sistemde azot tüketim oranınının 710 mg/gün'e ulaştığını bulmuşlardır. Nitrat, nitrit ve amonyum konsantrasyonunu standart metotlara göre belirlemişler ve (Fluoresce in situ hibridizasyon (FISH) ile reaktördeki bakterilerin Anammox bakteri içeriğine bakmışlardır. Hollow fiber membran kullanarak Anammox reaksiyonunun mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir ortam ve azot giderimi için de uygun bir sistem olduğunu bulmuşlardır.

Zhang ve ark. (2011) biyokütlenin tutulması için polietilen süngeri ile yukarı akışlı reaktörde Anammox prosesini uygulayarak yüksek oranda azot giderim performansını denemişlerdir. Azot yükleme oranını günde $8,4 \text{ kg/m}^3 \text{ N}$ olarak almışlar, azot giderimini ise günde $6 \text{ kg/m}^3 \text{ N}$ olarak ölçmüşlerdir. Buradan polietilen süngerinin yüksek azot giderim performansının elde edilmesinde etkili bir madde olduğunu açığa kavuşturmuşlardır. Amonyum:nitrit:nitrat oranını sırasıyla 1:1,09:0,14 olarak uygulamışlardır. Bakteri popülasyonunu DNA analizi sonucunda doğrulamışlardır. Stabil Anammox performansı elde edildikten sonra *Kumadai-1* ve *KSU-1* türlerinin baskın olduğunu görmüşlerdir.

Ni ve Meng (2011) yukarı akışlı sürekli reaktörde üç farklı çamur (floküle çamur, granüler çamur ve inaktif metanojenik granül) ile aşılama yapıp stabil şartlar sağlandıktan sonra substrat konsantrasyonunu ani bir şekilde artırıp Anammox mikroorganizmalarının inhibisyon etkisini çalışmışlardır. Reaktörde sentetik atık su kullanmışlardır. Reaktöre besleme yapmadan önce argon gazı ile oksijenden arındırmışlardır. Sonuçta en yüksek azot giderimini inaktif metanojenik granül ile aşılama reaktörde gözlemişlerdir. Giriş substrat konsantrasyonunu azaltarak yapılan düzeltmede, Anammox bakterileri ile zenginleştirilenden daha iyi sonuç almışlardır. Buradan Anammox bakterilerinin saflığının iyileştirmede ana faktör olduğunu görmüşlerdir. Ek olarak amonyanın Anammox reaktör performansında ve iyileştirme prosesinde önemli olduğu sonucuna varmışlardır.

Suneethi ve Joseph (2011) yapmış oldukları çalışmada, anaerobik membran biyoreaktörde anaerobik aşılama ile Anammox bakterilerinin başlaması ve devamlılığını çalışmışlardır. Çalışmalarında hollow fiber membran modülü kullanmışlardır. Anammox bakterilerinin gelişebilmesi için anaerobik membran biyoreaktörün içi %60 aşu bakterisi, %40 $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NaNO}_2$ içeren zenginleştirme ortamı ile doldurmuşlardır. Reaktörü HRT 1-3 gün arasında 350 gün işletmişlerdir. Sülfür indirgeyen bakterilerin H_2S üretmesini engellemek için ilk başta NaNO_3 (10 mg/L) eklemişlerdir. Bunun yanında amonyum azot konsantrasyon oranlarını da değiştirmişlerdir. Eş zamanlı olarak amonyum azotu ve nitrit azalması, nitrat üretimi, hidroksilamin, hidrazin varlığı, organik yük azaltılması ve bikarbonat kullanıldığını kanıtlamışlardır. Sonuçta en iyi giderimin HRT 3 günde olduğunu bildirmişlerdir.

Chamchoi ve Nitisoravut (2007) Anammox zenginleştirilmesi için yukarı akışlı, aktif çamur ve anaerobik çürütme reaktörleri 4 ay boyunca kesikli olarak işletmişlerdir. Sonrasında bütün reaktörlerde amonyum ve nitritin devamlı uzaklaştırılmasının Anammox aktivitesini meydana getirdiğini gözlemlemişlerdir.

Literatürde yapılan birçok çalışmada farklı dolgu malzemeleri kullanılarak Anammox aktivitesi ile çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmada ise seramik taş ve Linpor dolgu malzemeleri ile ayrı ayrı işletilen yukarı akışlı kolon reaktörlerde Anammox zenginleştirme aşamasının birbirlerine yakın olduğu sonucuna varılmıştır. Reaktörlerde yapılan analiz sonuçlarına göre, ortamda Anammox aktivitesinin başladığı görülmektedir.

3. ÇIKARIMLAR ve ÖZGÜN DEĞER

1995 yılında Delft'te (Hollanda) keşfedilen Anammox prosesi günümüzde oldukça fazla çalışılan azot giderim proseslerindedir. Bu prosesi oluşturan Anammox bakterilerinin mikrobiyal büyüme oranlarının çok düşük olması sebebiyle ortamdaki bakterilerin sistemde tutulması gerekmektedir. Literatürde gerçekleştirilen çalışmaların birçoğunda sürekli sistem yerine kesikli reaktör ile zenginleştirme aşamasına başlanmıştır. Bu çalışmada ise kolon reaktör sürekli sistem olarak işletilmiştir. Ayrıca seramik taşların ve Linpor dolgu malzemesinin işleme etkisi de incelenmiştir. Bu dolgu malzemelerinin işleme etkisinin yanı sıra Anammox bakterilerinin yavaş büyümesi sebebiyle, sistemden bakteri kaçağının engellenmesi ve üzerinde büyüebilecekleri bir ortam sağlanmıştır. Aynı zamanda farklı reaktörlerde kullanılan dolgu malzemelerinin hollow fiber membranlarla kıyaslandığında çok daha ucuz olması da ekonomik açıdan avantaj oluşturduğu tespitini doğurmaktadır.

Kaynaklar

APHA. (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, twenty first ed. American Public Health Association, Washington D.C., USA.

Chamchoi, N., Nitorisavut, S. (2007). Anammox enrichment from different conventional sludges. *Chemosphere*. 66: 2225–2232.

Jetten, M.S.M., Wagner, M., Fuerst, J., van Loosdrecht, M., Kuenen, G., Strous, M. (2001). Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. *Curr. Opin. Biotechnol*. 12: 283–288.

Jin, R.C., Zheng, P., Hu, A.H., Mahmood, Q., Hu, B.L., Jilani, G. 2008. Performance comparison of two anammox reactors: SBR and UBF. *Chemical Engineering Journal*. 138: 224–230.

Li, M., Hong, Y., Klotz, M.G., Gu, J-D. (2010). A comparison of primer sets for detecting 16S rRNA and hydrazine oxidoreductase genes of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in marine sediments. *Appl Microbiol Biotechnol*. 86: 781–790.

Mulder, A., Van de Graaf, A.A., Robertson, L.A., Kuenen, J.G. (1995). Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized-bedreactor. *FEMS Microbiol. Ecol*. 16: 177–183.

Ni, S.Q., Meng, J. (2011). Performance and inhibition recovery of anammox reactors seeded with different types of sludge. *Water Science & Technology*. 293: 710-718.

Noophan, P.L., Sripiboon, S., Damrongsri, M., Munakata-Marr, J. (2009). Anaerobic ammonium oxidation by *Nitrosomonas* spp. and anammox bacteria in a sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Management*. 90: 967–972.

Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. (1998). The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol*. 50: 589–596.

Suneethi, S., Joseph, K. (2011). Batch culture enrichment of ANAMMOX populations from anaerobic and aerobic seed cultures. *Bioresource Technology*. 102: 585–591.

Terada, A., Zhou, S., Hosomi, M. (2011). Presence and detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria and appraisal of anammox process for high-strength nitrogenous wastewater treatment: a review. *Clean Techn Environ Policy*. 13: 759-781.

Trigo, C., Campos, J.L., Garrido, J.M., Méndez, R. (2006). Start-up of the Anammox process in a membrane bioreactor. *Journal of Biotechnology*. 126: 475–487.

Van de Graaf, A.A., de Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M., Kuenen, J.G. (1996). Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology*. 142: 2187–2196.

Van de Graaf, A.A., Mulder, A., De Bruijn, P., Jetten, M.S.M., Robertson, L.A., Kuenen, J.G. (1995). *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 1246–1251.

Van Hulle, S.W.H., Vandeweyerb, H.J.P., Meesschaertc, B.D., Vanrolleghe, P.A., Dejansb, P., Dumoulinb, A. (2010). Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal*. 162: 1–20.

Van Niftrik, L.A., Fuerst, J.A., Damste, J.S.S., Kuenen J.G., Jetten M.S.M., Strous M. (2004). The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in Anammox bacteria. *FEMS Microbiol. Lett*. 233: 7–13.

Zhang L., Yang J.C., Hira D., Fujii T., Zhang W.J., Furukawa K. (2011). High-rate nitrogen removal from anaerobic digester liquor using an up-flow ANAMMOX reactor with polyethylene sponge as a biomass carrier. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 111:306-311.