

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science

CULTIVATION OF ANAEROBIC AMMONIUM OXIDATION (ANAMMOX) BACTERIA IN FIXED FILM BIOREACTOR

ISMAFATIN NABILAH BINTI ISMAIL

2023

Main Supervisor : Associate Professor Ts Shahrul bin Ismail, Ph.D

Co-Supervisor : Associate Professor Eng Zulkarnaini, Ph.D

Faculty : Faculty of Ocean Engineering Technology and Informatics

The cultivation process for anammox bacteria involves creating anaerobic conditions, providing a selective growth medium with ammonium and nitrite as nutrients, and monitoring key parameters for successful growth. The anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) mechanism was potential technology considering its capability in directly convert ammonium and producing nitrogen gas under anaerobic conditions. This research aimed to cultivate locally isolated anammox bacteria from marine samples while exploring the effectiveness of nitrogen removal biologically in a developed fixed film bioreactor. The laboratory-scale experiment used a sludge sample from a local anaerobic lagoon as inoculum. The nitrogen removal efficiency and the development of anammox bacteria indicate the anammox process effectiveness. After 200 days of reactor operation, the ammonium removal efficiency (ACE) was 70.39% and 82.49% of nitrogen removal efficiency (NRE). The nitrogen loading rate (NLR) value was 0.30 kg-N/m³.d and the highest nitrogen removal rate (NRR) was 0.125 kg-N/m³.d. The anammox phylum *Planctomycetota* bacteria were discovered at a rate of 0.08% of *Brocadiales*. Phylogenetic analysis justified the existence of anammox bacteria on the sequence similarity of 98%, similar to *Candidatus Brocadia sinica* and *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*. In conclusion, the reactor that includes local sludge originated from an anaerobic lagoon successfully cultivated the anammox bacteria. The findings from this study could establish the implementation of the anammox technology on nitrogen removal biologically for the remediation of aquaculture wastewater towards an industrial scale.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Sarjana Sains

**KULTIVASI BAKTERIA PENGOKSIDAAN AMMONIUM ANAEROBIK
(ANAMMOX) DALAM BIOREAKTOR FILEM TETAP**

ISMAFATIN NABILAH BINTI ISMAIL

2023

Penyelia Utama : Profesor Madya Ts Dr Shahrul bin Ismail, Ph.D

Penyelia Bersama : Profesor Madya Dr Eng Zulkarnaini, Ph.D

**Fakulti : Fakulti Teknologi Kejuruteraan Kelautan dan
Informatik**

Proses kultivasi bakteria anammox melibatkan penghasilan keadaan anaerobik, menyediakan medium pertumbuhan terpilih dengan ammonium dan nitrit sebagai nutrien, serta memantau parameter utama untuk pertumbuhan yang berjaya. Mekanisma pengoksidaan ammonium anaerobik (ANAMMOX) merupakan teknologi yang berpotensi memandangkan keupayaannya untuk menukar ammonium secara langsung dan menghasilkan gas nitrogen di dalam keadaan anaerobik. Penyelidikan ini bertujuan untuk memupuk bakteria anammox tempatan daripada sampel marin sambil meneroka keberkesanan penyingkiran nitrogen secara biologi dalam bioreaktor filem tetap yang dibangunkan. Eksperimen skala makmal menggunakan sampel enap cemar dari lagun anaerobik tempatan sebagai inokulum. Kecekapan penyingkiran nitrogen dan perkembangan bakteria anammox menunjukkan keberkesanan proses anammox. Selepas 200 hari operasi reaktor, kecekapan penyingkiran ammonium (ACE) ialah 70.39% dan 82.49% kecekapan penyingkiran nitrogen (NRE). Nilai kadar pemuatan nitrogen (NLR) adalah 0.30 kg-N/m³.d dan kadar penyingkiran nitrogen (NRR) tertinggi ialah 0.125 kg-N/m³.d. Bakteria *Planctomycetota* filum anammox ditemui pada kadar 0.08% daripada *Brocadiales*. Analisis filogenetik membuktikan kewujudan bakteria anammox pada persamaan jujukan 98%, serupa dengan *Candidatus Brocadia sinica* dan *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*. Kesimpulannya, reaktor yang merangkumi enapcemar tempatan yang berasal dari lagun anaerobik berjaya mengkultivasi bakteria anammox. Penemuan daripada kajian ini boleh mewujudkan pelaksanaan teknologi anammox pada penyingkiran nitrogen secara biologi untuk pemulihan air sisa akuakultur ke arah skala industri.