

Andrzej BUTAREWICZ, Elżbieta WOŁĘJKO
Agata JABŁOŃSKA-TRYPUĆ, Urszula WYDRO

Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii
ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok
e-mail: a.butarewicz@pb.edu.pl

Wykorzystanie ultradźwięków o niskiej częstotliwości do dezintegracji bakterii nitkowatych

The Use of Low Frequency Ultrasound to Disintegrate Filamentous Bacteria

The increase in the number of filamentous bacteria in activated sludge causes complications in the functioning of the sewage treatment plant. The paper presents the results of investigation of activated sludge coming from two sewage treatment plants - municipal and industrial. In both treatment plants the increase in the number of filamentous bacteria in winter has been noticed. In order to reduce the number of filamentous bacteria in activated sludge, the sludge samples were subjected to ultrasonic disintegration at a frequency of 40 kHz at 1, 2, 3, 5, 10 and 20 minutes. The use of low frequency ultrasounds has contributed to the defragmentation and destruction of most filamentous bacteria in activated sludge after 10 minutes of their operation. Necessary time to almost complete defragmentation of filamentous bacteria is more than 20 minutes.

Keywords: activated sludge, filamentous bacteria, disintegration of filamentous bacteria, ultrasounds

Wstęp

Organizmy nitkowate występują zarówno w osadzie czynnym, jak i nadmiernym, a także w osadzie poddanym procesowi przeróbki w wydzielonych komorach fermentacyjnych. Pozytywną rolą tych bakterii w osadzie czynnym jest spajanie kłaczków. Uczestniczą one również w wielu procesach biochemicznych zachodzących w osadzie czynnym, np. utlenianiu związków węgla, siarki i żelaza. Obecność bakterii nitkowatych w osadzie czynnym jest zjawiskiem pożądanym, o ile ich liczebność nie przekroczy pewnego progu, który jest trudny do określenia. Ich nadmierny rozwój przyczynia się do zaburzenia pracy komory osadu czynnego, powstawania piany, co w większości oczyszczalni stanowi duży problem. Mechanizm ich nadmiernego wzrostu nie jest poznany. Jednym z czynników przyczyniających się do ich wzrostu mogą być bakteryjne zewnątrzkomórkowe substancje polimerowe, które umożliwiają tworzenie agregatów i rozrost nitek [1]. Duża liczba tych bakterii powoduje zaburzenia w procesie sedymentacji kłaczków osadu czynnego. Z wyżej wymienionych powodów określenie liczby bakterii nitkowa-

tych w osadzie czynnym jest istotnym czynnikiem pomagającym w ocenie pracy oczyszczalni ścieków.

Mikroorganizmy nitkowate występujące w osadzie czynnym to bakterie lub grzyby. Do niedawna wiele z nich nie było rozpoznanych, a obecnie można wyróżnić około 80 rodzajów i typów bakterii lub grzybów nitkowatych. Ważną grupę bakterii nitkowatych stanowią promieniowce (typ *Actinobacteria*), np. z rodzajów *Nocardia* i *Rhodococcus*. Gatunki te przyczyniają się do powstawania nadmiernej ilości piany oraz powstawania kożucha na powierzchni komór osadu czynnego czy w osadnikach wtórnych [2]. Komórki wielu bakterii nitkowatych tworzą długie splecione łańcuchy. Typowym przykładem jest gatunek *Microtrix parvicella*, który często występuje w oczyszczalniach komunalnych, a w przypadku masowego wzrostu może powodować pęcznienie osadu.

Diagnostyka bakterii nitkowatych jest wciąż niepełna, choć w ostatnich latach dokonał się duży postęp i opracowano metody ich izolowania i identyfikacji. Bakterie nitkowate posiadają wiele cech umożliwiających ich różnicowanie, np. rozgałęzienia nici, ruchliwość nici, obecność pochewek, obecność porośli, kształt komórek, obecność ściany komórkowej czy granulki zawierających substancje zapasowe [3-5]. Ocenę wymienionych cech można przeprowadzić, wykonując preparaty mikroskopowe niebarwione i barwione. Na ich podstawie określa się gatunki dominujące i podporządkowane bakterii nitkowatych przy użyciu mikroskopu optycznego.

Usunięcie bakterii nitkowatych jest trudne, a, jak wykazują doświadczenia prowadzone w różnych laboratoriach, najefektywniejszymi metodami do ograniczenia liczby tych bakterii są ultradźwięki o różnym zakresie częstotliwości, czynnikiem termiczny, np. para wodna, lub stosowanie związków chemicznych [6-10]. Wybór odpowiedniego systemu zwalczania nadmiaru bakterii nitkowatych powinien być poprzedzony wynikiem identyfikacji występujących w osadzie czynnym dominujących gatunków bakterii nitkowatych.

Ultradźwięki to drgania mechaniczne cząstek ośrodka spowodowane minimalną częstotliwością, którą przyjęto na 16÷20 kHz. Górną granicę określa częstotliwość 1 GHz. Jak podaje Bień [11], podczas przechodzenia fali dźwiękowej przez ośrodek ciekły powstają różne zjawiska, np. kawitacja, dyspersja, koagulacja, utlenianie, redukcja, ciśnienie promieniowania czy zjawiska elektrokinetyczne. Przy niszczeniu drobnoustrojów największe znaczenie ma proces kawitacji, w wyniku którego wytwarzane są pęcherzyki w fazie ciekłej. Wytworzone pęcherzyki anihilują, co prowadzi do wzrostu ciśnienia i zniszczenia komórek bakteryjnych [11, 12].

W ostatnich latach w publikacjach naukowych obserwuje się wzrost zainteresowania ultradźwiękami. Szczególne zainteresowanie badaczy związane jest z wykorzystaniem ultradźwięków o niskiej częstotliwości w zakresie 20÷40 kHz. Najwięcej prac dotyczy wpływu działania ultradźwięków na proces kondycjonowania osadów ściekowych [13-16] oraz wykorzystania rozłożonej pod wpływem działania ultradźwięków materii organicznej na zwiększenie wytwarzania biogazu podczas procesu fermentacji [17-19], natomiast niewiele doniesień dotyczy wpływu ultradźwięków na procesy biologiczne.

Duże możliwości związane są z zastosowaniem dezintegratorów ultradźwiękowych w oczyszczalniach ścieków. Jak podają producenci takich urządzeń, zastosowanie ultradźwięków może przyczynić się między innymi do:

- redukcji objętości osadów ściekowych
- skrócenia hydraulicznego czasu retencji
- zwiększenia produkcji biogazu
- poprawy zdolności odwadniania osadu
- niszczenia bakterii nitkowatych (www.ces.com.pl)

Dlatego też podstawowym celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu ultradźwięków o niskiej częstotliwości 40 kHz na przeżywalność bakterii nitkowatych obecnych w osadzie czynnym. Dodatkowo określono wpływ zastosowanych ultradźwięków na skład biotyczny osadu.

1. Metodyka badań

W badaniach wykorzystano osad czynny pochodzący z dwóch oczyszczalni ścieków. Pierwsza to oczyszczalnia ścieków z przemysłu mięsnego w Czyżewie, która oczyszcza około 280 dam³ ścieków przemysłowych rocznie. Zasadnicze oczyszczanie zachodzi w reaktorach sekwencyjnych napowietrzanych turbinami powierzchniowymi. Wstępne oczyszczanie ścieków opiera się na procesach cedzenia z zastosowaniem sita oraz flotacji z zastosowaniem flotatora. Podczyszczone ścieki odprowadzane są do reaktorów SBR. Osad nadmierny poddawany jest procesowi stabilizacji beztlenowej wraz z odpadem powstającym w trakcie pracy flotatora. Drugim obiektem badań była Białostocka Oczyszczalnia Ścieków (BOŚ), która oczyszcza ścieki bytowo-gospodarcze w 80% oraz około 20% ścieków przemysłowych - głównie z przemysłu spożywczego i mięsnego. W 2015 r. ilość oczyszczonych ścieków wynosiła ponad 20 000 dam³. Procesy oczyszczania ścieków są oparte na konwencjonalnej metodzie osadu czynnego i są realizowane z podziałem na trzy węzły technologiczne: mechaniczny, biologiczny i przeróbki osadów.

Do badań pobrano próbki osadu czynnego o objętości po 5 dm³ z dwóch oczyszczalni ścieków. Badania wykonano w grudniu 2015 i lutym 2016 r. w okresie, gdy nastąpił wzrost liczebności bakterii nitkowatych, co przyczyniło się do powstania dużej ilości piany. W pierwszym etapie w próbkach osadu czynnego scharakteryzowano skład biotyczny osadu i dominujące gatunki bakterii nitkowatych, a następnie osad czynny poddano działaniu ultradźwięków w różnych przedziałach czasowych. Na podstawie uzyskanych wyników określono optymalny czas do dezintegracji dominujących w osadzie czynnym bakterii nitkowatych.

Skład biotyczny osadu określono, wykonując preparaty przyżyciowe. Oszacowanie liczebności bakterii nitkowatych występujących w osadzie czynnym polegało na wykonaniu preparatów niebarwionych. Następnie wykonane preparaty poddano ocenie na podstawie obserwacji prowadzonych w mikroskopie Olympus BX 63. W osadzie pobranym z każdej oczyszczalni wykonano 2 serie pomiarów, a w każdej z nich analizowano po 5 preparatów niebarwionych. Na tej podstawie określono

indeks bakterii nitkowatych. Przy określaniu ich liczby skorzystano z opracowanego specjalnego systemu, który umożliwiał szacunkową ocenę udziału tych bakterii. W tym celu stosowano porównanie obrazu preparatu mikroskopowego z obrazami referencyjnymi przedstawionymi przez Eikelbooma i van Buijsena [3] oraz przez Fiałkowską i Pajdak-Stós [4]. W systemie tym przyjęto skalę od FI 0 do FI 5 (FI - indeks bakterii nitkowatych). O dobrej pracy komory, a więc dobrej jakości osadu, świadczyła obecność regularnych, zwartych i mocnych kłaczek o stosunkowo niskim indeksie bakterii nitkowatych - FI poniżej 3, a także niewielka liczba bakterii wolno żyjących. Natomiast osad oceniono jako zły, gdy kłaczki były słabe, drobne, a indeksy wiciowców, ameb nagich i bakterii swobodnie pływających były wysokie, co może świadczyć o przeciążeniu osadu, zbyt krótkim wieku osadu czy niedotlenieniu [4].

Następnie próbki osadu czynnego o objętości 4 dm^3 poddano działaniu ultradźwięków o częstotliwości 40 kHz. Do tego celu wykorzystano myjkę ultradźwiękową sonic 5 firmy Polsonic o mocy $2 \times 320 \text{ W}$ i częstotliwości 40 kHz, do której wiano osad. Intensywność ultradźwięków względem pola powierzchni naczynia, w którym dezintegrowano osady, wynosiła $I_N = 0,95 \text{ W/cm}^2$, a gęstość mocy $U_g = 0,16 \text{ W/cm}^3$. Wszystkie parametry były niezmiennie w czasie wykonywania doświadczeń z wyjątkiem czasu sonikacji. Badania wykonano, poddając próbki działaniu ultradźwięków przez 1, 3, 5, 7, 10 i 20 minut. Po czasie sonikacji wykonano preparaty przyżyciowe oraz preparaty barwione. W każdej próbce osadu wykonano po pięć preparatów barwionych metodą Grama i metodą Neissera. Barwienie metodą Grama jest podstawową techniką stosowaną do różnicowania bakterii na dwa typy: bakterie Gram-dodatnie barwią się na ciemnogranatowy lub fioletowy kolor, a bakterie Gram-ujemne na kolor jasnoczerwony. W przypadku barwienia preparatów metodą Neissera można stwierdzić obecność w komórkach bakterii materiałów zapasowych w postaci polifosforanów, a także zróżnicowanie nitek na bakterie Neisser-dodatnie i Neisser-ujemne. Wynik barwienia można sklasyfikować za pomocą trzech kategorii:

- bakterie Neisser-ujemne - są koloru bladobeżowego i najczęściej są słabo widoczne w preparacie;
- bakterie Neisser-dodatnie - barwią się na kolor fioletowy lub ciemnobrązowy; typ 0092 barwi się na kolor jasnofioletowy, a *Nostocoida limicola* na kolor ciemnofioletowy;
- bakterie Neisser-ujemne - ich nici zawierają granule polifosforanów i barwią się na granatowo lub czarno [4].

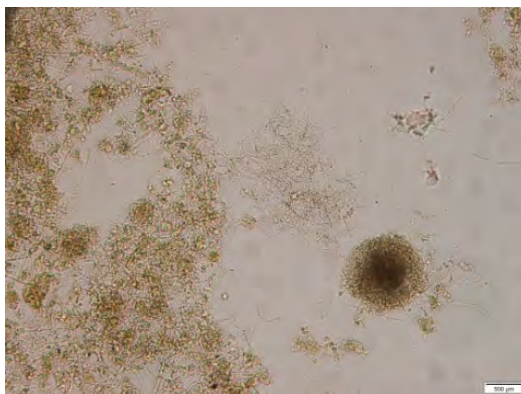
Do identyfikacji bakterii nitkowatych wykorzystano atlas „Osad czynny - biologia i analiza mikroskopowa” [4] oraz „Podręcznik mikroskopowego badania osadu czynnego” [3].

2. Wyniki badań oraz ich interpretacja

Bakterie nitkowate są problemem w wielu oczyszczalniach ścieków zarówno komunalnych, jak i przemysłowych. Zjawisko masowego występowania bakterii

nitkowatych ma zwykle miejsce w okresie jesienno-zimowym. W badanych oczyszczalniach na powierzchni osadu zaobserwowano powstawanie piany, która po pewnym czasie wysychała, tworząc zwartą i dość sztywną strukturę. Główną przyczyną powstawania piany są liczne skupiska bakterii nitkowatych, które wykazują słabe powinowactwo do wody. Flotacja tych bakterii na powierzchnię komory spowodowana jest przyklejaniem się bakterii nitkowatych wraz z kłaczkami osadu do pęcherzyków powietrza.

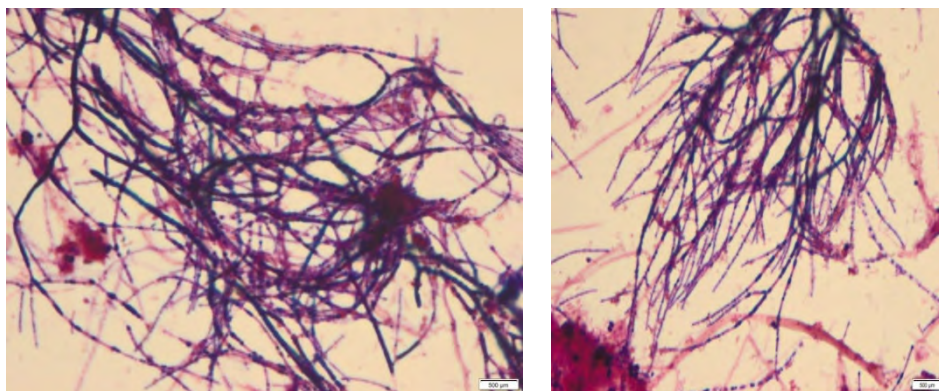
Na podstawie wykonanych preparatów przyżyciowych stwierdzono, że osad czynny pobrany z reaktora SBR z oczyszczalni przemysłowej był bardzo ubogi w skład gatunkowy. Pojawiały się nieliczne wolnopływające pierwotniaki oraz nicienie, a także pojedyncze wrotki. Nie odnotowano tak charakterystycznych dla osadu czynnego orzęsków osiadłych i pływających, wiciowców, słonecznic czy też ameb domkowych. Stwierdzono natomiast dużą liczbę bakterii zooglealnych należących do gatunku *Zooglea ramigera* oraz dość liczne monokolonie bakterii (rys. 1).



Rys. 1. Kłaczeki osadu czynnego z dużą liczbą bakterii nitkowatych. Po prawej stronie monokolonie bakterii (źródło: fotografia wykonana przez autorów)

Fig. 1. Active sludge tumblers with a large number of filamentous bacteria. On the right, monoculture of bacteria (source: photograph taken by the authors)

Na podstawie szacunkowej oceny liczebności bakterii nitkowatych w osadzie czynnym pobranym ze środka komory w oczyszczalni przemysłowej określono indeks FI 4 odpowiadający dużej liczbie organizmów nitkowatych. W preparatach wykonanych z próbek osadu czynnego pobranego z komory reaktora SBR stwierdzono obecność kilku gatunków bakterii nitkowatych z dominującym Typem 0092 (rys. 2). Bakterie należące do tego typu były Gram-ujemne i Neisser-dodatnie. Drugim gatunkiem dominującym były bakterie *Sphaerotilus sp.* Bakterie należące do tego gatunku były powyginane, a w niektórych miejscach preparatu tworzyły skupiska poplątanych długich nitek. W badanych próbkach obecne były Gram-dodatnie bakterie z gatunku *Microthrix parvicella*. Stwierdzono również obecność rozgałęzionych Gram-dodatnich, Neisser-ujemnych nitek należących do rodzaju *Actinomyces* - typ podporządkowany oraz dwa inne typy podporządkowane: *Thiothrix* - nitki Neisser-ujemne oraz Gram-ujemne, a także długie nitki - Typ 0914.



Rys. 2. Bakterie nitkowate w próbkach osadu z oczyszczalni przemysłowej. Po lewej Typ 0092 oraz *M. parvicella*. Po prawej stronie *Sphaerotilus sp.* (x1000)// (źródło: fotografie wykonane przez autorów)

Fig. 2. Filamentous bacteria in activated sludge samples from an industrial treatment plant. On the left, Type 0092 and *M. parvicella*. On the right side *Sphaerotilus sp.* (x1000)// (source: photographs taken by the authors)

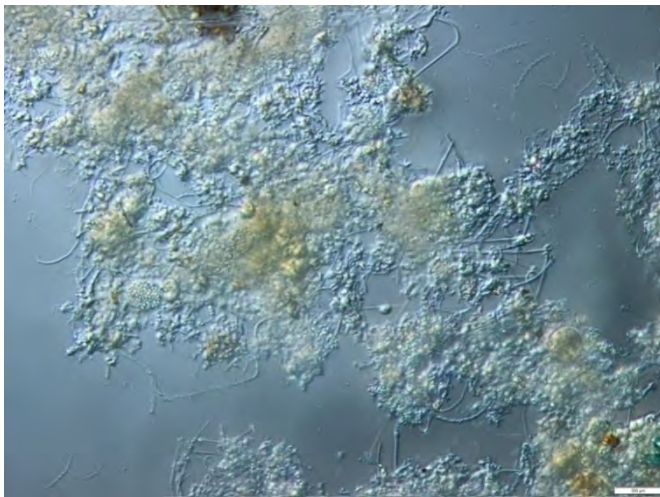
Drugim badanym osadem był osad pochodzący z komory napowietrzania komunalnej oczyszczalni ścieków. Na podstawie obserwacji cech morfologicznych kłaczek osadu czynnego stwierdzono, iż w próbce osadu dominowały kłaczki duże, nieregularne o dosyć zwartej strukturze.

Skład biotyczny osadu czynnego był zróżnicowany. W osadzie stwierdzono dość liczne skupiska bakterii tworzących monokolonie. Podstawową grupę organizmów w osadzie czynnym stanowiły różne formy orzęsków. Występowały gatunki osiadłe orzęsków: *Carchesium sp.*, *Epistylis coronata*, *Opercularia articulata*, *Vorticella convalaria*, *Vorticella microstoma* oraz gatunki pelzające: *Aspidisca cicada*, *Euplotes affinis*. Spośród orzęsków swobodnie pływających pojawiały się pojedyncze orzęski z gatunku *Prorodon teres*. Zaobserwowano także obecność nielicznych drapieżnych orzęsków należących do gatunków: *Acineta tuberosa*, *Acineta uncinata*, *Tokophrya infusionum*. Wrotki reprezentowane były przez gatunek *Rotaria rotatoria*. Pojawiały się również w niewielkiej liczbie wiciowce z rodzaju *Bodo* oraz ameby domkowe.

Przy oznaczaniu bakterii nitkowatych w osadzie czynnym ważna jest ocena ich udziału w biomacie. Na podstawie obserwacji mikroskopowych wykonanych preparatów stwierdzono zagęszczenie bakterii nitkowatych do kategorii FI 3 (rys. 3).

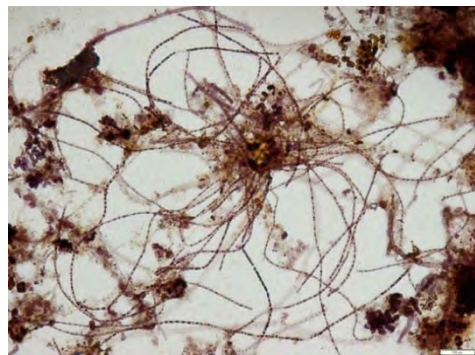
Przeprowadzone obserwacje mikroskopowe osadu czynnego pozwoliły zidentyfikować następujące gatunki bakterii nitkowatych: *Microthrix parvicella* (rys. 4), *Nostocoida limicola III*, *Thiothrix*, Typ 0092 oraz Typ 021N. Dominującym gatunkiem był *Microthrix parvicella*. Rozwojowi bakterii z gatunku *Microthrix parvicella* sprzyja wiele czynników, między innymi niskie obciążenie osadu (poniżej $0,2 \text{ kg BZT}_5 \cdot \text{kg s.m.}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), jak również długi lub średni wiek osadu. Nadmierny rozwój tego gatunku może wskazywać na wysoką zawartość w dopływających ściekach wyższych kwasów tłuszczowych i ich estrów [5]. Badania Andreasena i Nielsena [20] dowiodły, iż bakterie te potrafią wykorzystać do wzrostu długo-

łańcuchowe kwasy tłuszczowe (LCFA) przy braku tlenu, podczas gdy inne bakterie tworzące kłaczkę nie są do tego zdolne. Ponadto, właściwości fizjologiczne *Microthrix parvicella* umożliwiają im przetrwanie w warunkach niskiego natlenienia i przy temperaturze nawet 7°C. Wynika to z obecności hydrofobowych substancji lipidowych wbudowanych w ściany komórkowe tych bakterii oraz ze zdolności syntetyzowania materiałów zapasowych w postaci kwasu poli-β-hydroksymasłowego (PHB) [21]. Możliwościom rozwoju bakterii, takich jak *Microthrix parvicella*, sprzyjają zaawansowane technologie oczyszczania ścieków, w których głównym czynnikiem jest proces biologicznego usuwania biogenów (azotu i fosforu) przy stosowaniu niskich obciążeń osadu czynnego ładunkiem zanieczyszczeń oraz tworzenie zmiennych warunków tlenowo-beztlenowych [22].



Rys. 3. Kłaczkę w osadzie czynnym pobranym z komory napowietrzania oczyszczalni komunalnej (źródło: fotografia wykonana przez autorów)

Fig. 3. The flocks in the activated sludge taken from the aeration chamber of the municipal treatment plant (source: photograph taken by the authors)



Rys. 4. *M. parvicella* po barwieniu Grama i Neissera (x1000) (źródło: fotografia wykonana przez autorów)

Fig. 4. *M. parvicella* after Gram and Neisser (x1000) staining (source: photograph taken by the authors)

Po zastosowaniu ultradźwięków o częstotliwości 40 kHz badane osady z oczyszczalni komunalnej, jak też przemysłowej zmieniły swoją charakterystyczną strukturę. Rozerwanie bakterii nitkowatych na mniejsze fragmenty lub rozpad komórek były spowodowane działaniem ultradźwięków. Obserwowane zjawisko wzrostu temperatury w osadzie poddanym działaniu ultradźwięków mogło jedynie wspomagać dezaktywację i zniszczenie mikroorganizmów występujących w osadzie. Wzrost temperatury jest uzależniony od mocy urządzenia wytwarzającego ultradźwięki zastosowanego w doświadczeniu oraz czasu ich działania, a także od temperatury początkowej osadu. W analizowanym doświadczeniu moc urządzenia była wartością stałą.

Niezależnie od rodzaju osadu czynnego, a więc, czy pochodził on z oczyszczalni komunalnej czy przemysłowej, w wykonanych preparatach mikroskopowych następowały łatwe do zaobserwowania zmiany w strukturze kłaczków oraz zawartych w osadzie bakterii nitkowatych. Pod wpływem działania ultradźwięków kłaczkki osadu uległy rozbiciu na drobne fragmenty, które tworzyły płynącą masę w preparatach obserwowanych pod mikroskopem. O ile po krótkim działaniu ultradźwięków (od 1 do maksymalnie 5 min) nastąpiły niewielkie zmiany w strukturze osadu i wciąż widoczne były zwarte kłaczkki, o tyle po 10 minutach zaobserwowano ich rozdrobnienie, a także dezintegrację komórek. Indeks bakterii nitkowatych obniżył się po 5 minutach do wartości FI 1, a po 10 minutach określono jego wartość na FI 0 lub nie można było go określić. Przedłużenie działania ultradźwięków do 20 minut powodowało brak możliwości określenia tego indeksu.

Nie udało się jednak zniszczyć wszystkich nitek. Nawet po 20 minutach sonikacji w wykonanych preparatach mikroskopowych pozostały widoczne pojedyncze najczęściej Gram-dodatnie bakterie nitkowate oraz ziarniaki, które nie uległy zniszczeniu. W wolnych przestrzeniach obserwowano charakterystyczne płynięcie kłaczków osadu czynnego pod wpływem działania fal akustycznych. Podobne zjawisko płynięcia osadu pod wpływem działania ultradźwięków obserwowane było przez wielu badaczy [23-25]. Najbardziej istotną korzyścią tego procesu jest mieszanie osadu, co ułatwia rozprowadzenie energii ultradźwięków w całej masie osadu oraz konwekcję w cieczy, a także równomierne rozprowadzenie ciepła [26].

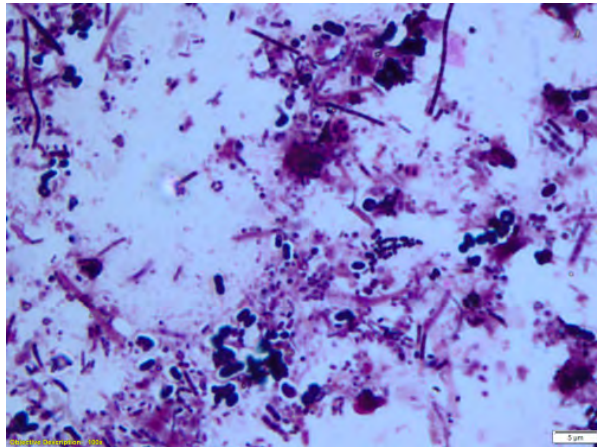
Na podstawie wykonanych preparatów przyżyciowych stwierdzono, że po 10 minutach działania ultradźwięków występujące w osadzie czynnym organizmy zostały zdeintegrowane (rys. 5) i nie było możliwe rozpoznanie ich rodzajów lub gatunków. O ile po 1-2 minutach działania ultradźwięków w badanych próbkach osadu czynnego występowały pojedyncze żywe pierwotniaki wolnopływające, o tyle po 10 minutach ich działania i one uległy rozpadowi.

Na rysunku 6 przedstawiono przykład barwionej metodą Grama próbki osadu z oczyszczalni komunalnej poddanej działaniu ultradźwięków o częstotliwości 40 kHz przez 10 minut.



Rys. 5. Osad czynny z oczyszczalni przemysłowej po 10 minutach oddziaływania ultradźwięków - preparat niebarwiony (x200)

Fig. 5. Activated sludge from an industrial plant after 10 minutes ultrasound interaction - preparation not stained (x200)



Rys. 6. Obraz mikroskopowy osadu czynnego z komunalnej oczyszczalni ścieków poddanego działaniu ultradźwięków o częstotliwości 40 kHz przez 10 minut (x1000) (źródło: fotografia wykonana przez autorów)

Fig. 6. Microscopic image of activated sludge from a municipal sewage treatment plant subjected to ultrasound at a frequency of 40 kHz for 10 minutes (x1000) (source: photograph taken by the authors)

Zastosowany w badaniach dezintegrator o mocy 640 W i gęstość mocy $U_g = 0,16 \text{ W/cm}^3$ nie pozwolił na osiągnięcie pełnej dezintegracji bakterii nitkowatych w czasie prowadzenia doświadczenia. Pomimo stwierdzenia tego faktu większość dominujących bakterii nitkowatych występujących w osadzie czynnym z komunalnej oczyszczalni ścieków, do których można zaliczyć bakterie z gatunku *Microthrix parvicella*, uległa dezintegracji. Podobnie nie stwierdzono obecności

w osadzie czynnym pochodzącym z oczyszczalni przemysłowej bakterii należących do dominującego typu 0092 i gatunku *Sphaerotilus sp.*

W celu poprawy efektywności procesu oczyszczania ścieków osadem czynnym w klasycznych komorach napowietrzania czy też w reaktorach typu SBR należy rutynowo kontrolować zmiany biologiczne zachodzące w osadzie. Procedura taka nie jest kosztowna i może być stosowana we wszystkich oczyszczalniach ścieków. Ciągły nadzór nad jakością osadu czynnego pozwoli na określenie zmian w liczebności bakterii nitkowatych, a także umożliwi określenie ich gatunków dominujących. Zastosowanie dezintegratora ultradźwięków do ograniczenia liczby bakterii nitkowatych jest możliwe w przypadku umiejscowienia go na drodze osadu recykulowanego do komory napowietrzania. Powinno to ograniczyć liczebność bakterii nitkowatych w osadzie czynnym i przyczynić się do poprawy efektywności procesu oczyszczania ścieków. Istnieje również możliwość zastosowania dezintegratorów do niszczenia piany powstającej na powierzchni komór napowietrzania.

Podsumowanie

Badania biologiczne osadu czynnego są skutecznym narzędziem wykorzystywanym do oceny procesu oczyszczania ścieków. Zastosowanie mikroskopu optycznego w badaniach osadu czynnego umożliwia obserwację preparatów mikroskopowych, na podstawie których rozpoznaje się skład biotyczny osadu, a preparaty barwione metodą Grama i Neissera pozwalają na stwierdzenie dominujących i podporządkowanych gatunków bakterii nitkowatych. Rutynowo wykonywane badania mikroskopowe osadu czynnego umożliwiają również zaobserwowanie zwiększenia liczebności bakterii nitkowatych. Nadmiar bakterii nitkowatych może przyczynić się do zmniejszenia efektywności procesu oczyszczania ścieków.

Jedną z metod ograniczenia liczby bakterii nitkowatych w osadzie czynnym jest zastosowanie dezintegratorów ultradźwiękowych. Badania przeprowadzone w skali laboratoryjnej wykazały, że zastosowanie ultradźwięków o częstotliwości 40 kHz i mocy 640 W nie zapewnia pełnej dezintegracji bakterii nitkowatych. Pomimo zniszczenia większości bakterii nitkowatych badane próbki osadu czynnego nawet po 20 minutach sonikacji zawierały niezidentyfikowane Gram-dodatnie bakterie nitkowate oraz niewielką liczbę ziarniaków. Skuteczność ich działania jest uzależniona głównie od zastosowanego czasu sonikacji. Jakkolwiek wykorzystanie dezintegratorów ultradźwiękowych do ograniczenia nadmiernego wzrostu bakterii nitkowatych w osadzie czynnym zwłaszcza w dużych oczyszczalniach ścieków jest problematyczne, to w małych oczyszczalniach powinny one znaleźć szersze zastosowanie.

Podziękowania

Badania wykonano w Zakładzie Biologii Sanitarnej i Biotechnologii Politechniki Białostockiej w ramach realizacji pracy statutowej nr S/WBiIS/3/2015.

Literatura

- [1] Hii K., Baroutain S., Parthasarathy R., Daniel J.G., Eshtiaghi N., A review of wet air oxidation and thermal hydrolysis technologies in sludge treatment, *Bioresource Technology* 2014, 155, 289-299.
- [2] Kocwa-Haluch R., Woźniakiewicz T., Analiza mikroskopowa osadu czynnego i jej rola w kontroli procesu technologicznego oczyszczania ścieków, *Czasopismo Techniczne Technical Transactions* 2011, 2-Ś, zeszyt 6, rok 108, 142-162.
- [3] Eikelboom D.H., van Buijsen H.J.J., *Podręcznik mikroskopowego badania osadu czynnego*, Wyd. Seidel-Przywecki, Szczecin 1999.
- [4] Fijałkowska E., Fyda J., Pajdak-Stós A., Wiąckowski K., *Osad czynny: biologia i analiza mikroskopowa*, Oficyna Wydawnicza „Impuls”, Kraków 2005.
- [5] Fijałkowska E., Pajdak-Stós A., Identyfikacja organizmów nitkowatych, [w:] E. Fijałkowska, J. Fyda, A. Pajdak-Stós, K. Wiąckowski, *Osad czynny: biologia i analiza mikroskopowa*, Wyd. Seidel-Przywecki, Piaseczno 2010.
- [6] Chu C.P., Chang B.V., Liao G.S., Jean D.S., Lee D., Observations on changes in ultrasonically treated waste activated sludge, *Water Research* 2001, 35, 1038-1046.
- [7] Chu C.P., Lee D. J., Bea-Ven Chang C.S.Y., Tay J.H., “Weak” ultrasonic pre-treatment on aerobic digestion of flocculated activated biosolids, *Water Research* 2002, 35, 2681-2688.
- [8] Braguglia C.M., Gagliano M.C., Rossetti S., High frequency ultrasound pretreatment for sludge anaerobic digestion: Effect of floc structure and microbial population, *Bioresource Technology* 2012, 110, 43-49.
- [9] Alfaro N., Cano R., Fdz-Polanco F., Effect of thermal hydrolysis and ultrasound pretreatments on foamming in anaerobic digesters, *Bioresource Technology* 2014, 170, 477-482.
- [10] Butarewicz A., *Zastosowanie ultradźwięków do dezintegracji mikroorganizmów w ściekach i osadach ściekowych*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Białostockiej, Białystok 2016.
- [11] Bień J.B., *Osady ściekowe - teoria i praktyka*, Wyd. Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2002.
- [12] Kavitha S., Yukesh Kannah R., Yeom I.T., Uan D.K., Rajesh Banu J., Combined thermo-chemo-sonic disintegration of waste activated sludge for biogas production, *Bioresource Technology* 2015, 197, 383-392.
- [13] Braguglia C.M., Mininni G., Tomei M.C., Rolle E., Effect of feed/ inoculum ratio on anaerobic digestion of sonicated sludge, *Water Science and Technology* 2006, 54(5), 77-84.
- [14] Show K.Y., Mao T.H., Lee D.J., Optimisation of sludge disruption by sonication, *Water Research* 2007, 41, 4741-4747.
- [15] Feng X., Deng J.C., Yu Q., Li H.L., Physical and chemical characteristics of waste activated sludge treated ultrasonically, *Chemical Engineering Process* 2009, 48, 187-194.
- [16] Wolski P., Wolny L., Zawieja I., Kondycjonowanie osadów nadmiernych poddanych stabilizacji a ich odwadnialność, *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2010, 13(1), 67-77.
- [17] Ek A., Ultrasonic treatment of sewage sludge in order to increase biogas production, <http://liu.diva-portal.org/smash/get/diva2:20645/FULLTEXT01.pdf>.
- [18] Luste S., Heinonen-Tanski H., Luostarinen S., Co-digestion of dairy cattle slurry and industrial meat-processing by-products-effect of ultrasound and hygienization pre-treatments, *Bioresource Technology* 2012, 104, 195-201.
- [19] Quiroga G., Castrillón L., Fernandez-Nava Y., Maranon E., Nergal L., Rodriguez-Iglesias J., Ormaechea P., Effect of ultrasound pre-treatment in the anaerobic co-digestion of cattle manure with food waste and sludge, *Bioresource Technology* 2014, 154, 74-79.
- [20] Andreasen K., Nielsen P.H., Growth of *Microthrix parvicella* in nutrient removal activated sludge plants: studies of in situ physiology, *Water Research* 2000, 34, 1559-1569.

- [21] Rossetti S., Tomei M.C., Levantesi C., Ramadori R., Tandoi V., "Microthrix parvicella": a new approach for kinetic and physiological characterization, *Water Science and Technology* 2002, 46, 1-2, 65-75.
- [22] Kalisz L., *Piana biologiczna. Przyczyny powstawania i możliwości kontroli*, Instytut Ochrony Środowiska - Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa 2011.
- [23] Marmottant P., Versluis M., de Jong N., Hilgenfeldt S., Lohse D., High - speed imaging of an ultrasound-driven bubble in contact with a wall: "Narcissus" effect and resolved acoustic streaming, *Experiments in Fluids* 2006, 41, 147-153.
- [24] Kuznetsova L.A., Coakley W.T., Applications of ultrasound streaming and radiation force in biosensors, *Biosensors and Bioelectronics* 2007, 22, 1567-1577.
- [25] Mahulkar A.V., Riedel C., Gogate P.R., Neis U., Pandit A.B., Effect of dissolved gas on efficacy of sonochemical reactors for microbial cell disruption: Experimental and numerical analysis, *Ultrasonics Sonochemistry* 2009, 16, 635-643.
- [26] Kumar A., Gogate P.R., Pandit A.B., Mapping the efficacy of the new designs for large scale sonochemical reactors, *Ultrasonics Sonochemistry* 2007, 14, 538-544.

Białystok University of Technology, Faculty of Civil and Environmental Engineering
Department of Chemistry, Biology and Biotechnology
ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok
e-mail: a.butarewicz@pb.edu.pl

Streszczenie

Przyrost liczebności bakterii nitkowatych w osadzie czynnym powoduje komplikacje w funkcjonowaniu oczyszczalni ścieków. W pracy przedstawiono wyniki badań osadu czynnego pochodzącego z dwóch oczyszczalni ścieków - komunalnej i przemysłowej. W obu oczyszczalniach stwierdzono wzrost liczebności bakterii nitkowatych w okresie zimowym. W celu ograniczenia liczebności bakterii nitkowatych w osadzie czynnym próbki osadu poddano dezintegracji ultradźwiękami o częstotliwości 40 kHz w czasie 1, 2, 3, 5, 10 i 20 minut. Zastosowanie ultradźwięków o niskiej częstotliwości przyczyniło się do defragmentacji i zniszczenia większości obecnych w osadach bakterii nitkowatych po czasie 10 min. Do całkowitej defragmentacji bakterii nitkowatych niezbędny jest czas powyżej 20 min.

Słowa kluczowe: osad czynny, bakterie nitkowane, dezintegracja bakterii nitkowatych, ultradźwięki