

Próby zwiększenia efektywności procesu redukcji azotanów w biologicznej oczyszczalni ścieków komunalnych „MEANDER”

Ryszard Pado¹

Iwona Paśmionka¹

Lucyna Pawłowska-Ćwięk¹

Krystyna Starzyk²

Zakład Mikrobiologii WSP¹

Kraków

Oczyszczalnia Ścieków Komunalnych²

Kraków-Płaszów

1. Wstęp

Zjawisko eutrofizacji wód powierzchniowych, ze względu na ograniczone zasoby wodne w naszym kraju staje się jednym z ważkich problemów gospodarczych. Eutrofizacja (zwiększona produktywność zbiorników wodnych) jest łańcuchem skomplikowanych procesów biologicznych, prowadzących do rozwoju szczególnie sinic (*Cyjanophyta*) i glonów. Procesy te pogłębiają się w miarę odstawiania wód wzbogaconych w najistotniejsze pierwiastki biogenne: fosfor (fosforanowy), azot (azotanowy) i węgiel (substancje organiczne). Dlatego wody stojące są w znacznie większym stopniu zeutrofizowane niż wody płynące. Wymienione składniki są wprowadzane przez niedoczyszczone ścieki komunalne i z przemysłu spożywczego oraz przez cieki wodne z przenażonych gruntów rolnych. W przeprowadzonych badaniach (1) wykazano, że w naszej szerokości geograficznej najbardziej „eutrofogennymi” są fosforany. Podniesiony poziom azotanów nie tylko przyczynia się do eutrofizacji, ale także jest szkodliwy dla wyższych organizmów zwierzęcych, ponieważ prowadzi do powstawania kancerogennych nitrozoamin (2). Najkorzystniejszym sposobem przeciwdziałania zarówno eutrofizacji, jak i powstawaniu nitrozoamin jest obniżenie koncentracji niepożądanych związków, przede wszystkim w ściekach. Zarówno z tych jak i ekonomicznych względów w oczyszczalniach ścieków należałoby zintensyfikować biologiczne procesy denitryfikacji (obniżanie zawartości azotanów) i wiązania fosforu poprzez zwiększenie biomasy

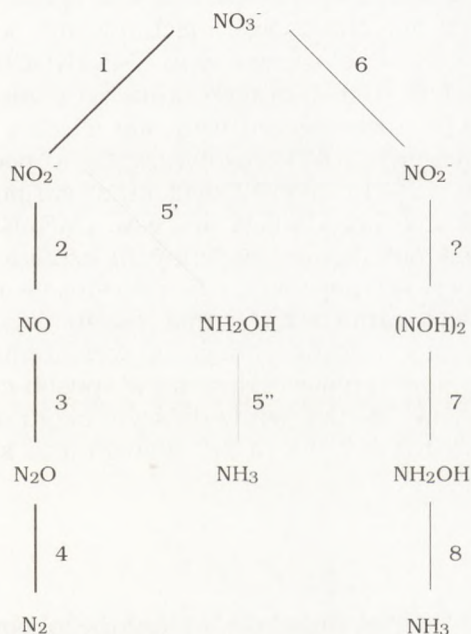
samych bakterii denitryfikacyjnych oraz zooglealnych („kłaczkujących”). Biotechnologiczne metody oczyszczania ścieków mają tę przewagę nad chemicznymi, że nie powodują wprowadzenia do obiegów troficznych ekosystemów związanych z odbiornikiem żadnych dodatkowych składników. W związku z tym autorzy podjęli się próby wzbogacenia osadu czynnego w kultury bakterii w celu zwiększenia efektywności procesów denitryfikacyjnych.

2. Biochemia redukcji azotanów

Znane są dwa szlaki metaboliczne redukcji azotanów: asymilacyjny (wszystkie organizmy mikroflory i rośliny) oraz dysymilacyjny inaczej zwany denitryfikacją (rys. 1). Proces denitryfikacji (zwany również oddychaniem azotanowym) jest prowadzony przez dość liczną grupę bakterii. Jedne z nich przeprowadzają denitryfikację częściową i wówczas produktem finalnym jest amoniak. U innych bakterii, w efekcie tzw. denitryfikacji całkowitej, powstaje azot cząsteczkowy. Enzymy szlaku denitryfikacji częściowej posiadają m.in. bakterie

Rys. 1. Ogólny schemat biochemicznych szlaków redukcji azotanów u bakterii.

1-4 — denitryfikacja całkowita prowadzona z udziałem enzymów: 1 — kompleks (Mo-Fe, Fe-S) denitryfikacyjnej reduktazy azotanowej, u większości denitryfikatorów inhibowany tlenem; 2 — denitryfikacyjna reduktaza azotanowa, inhibowana azotanami, której w zależności od pH produktami są NO lub N₂O; 3 — reduktaza tlenku azotu; 4 — reduktaza podtlenku azotu inhibowana O₂ i C₂H₂; 5', 5'' — denitryfikacja tzw. częściowa z dysymilacją amoniaku prowadzona przez bakterie *Desulfovibrio* sp. i in. z udziałem enzymów ostatecznie nie zbadanych; 6-8 — asymilacyjna redukcja azotanów, tzw. zbiałczanie prowadzone przez niemal wszystkie bakterie i rośliny z udziałem enzymów: 6 — asymilacyjna reduktaza azotanowa; 7 — asymilacyjna reduktaza azotanowa; 8 — asymilacyjna reduktaza hydroksyloaminy.



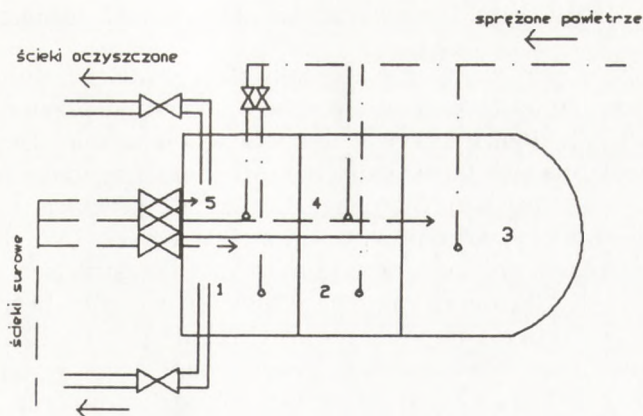
redukujące siarczany, dotychczas uznawane za bezwzględne beztlenowce, które właśnie w warunkach aerobowych „przełączają” swój metabolizm z oddychania siarczanowego na oddychanie azotanowe (3). Do przeprowadzania denitryfikacji całkowitej jest zdolnych wiele gatunków, m.in. *Thiobacillus denitrificans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. stutzeri* czy *Bacillus stearothermophilus*. Jednak szlak denitryfikacji całkowitej może przebiegać jedynie w warunkach limitowanego dostępu tlenu, a najefektywniej zachodzi anaerobowo (4,5). Asymilacyjny szlak redukcji azotanów prowadzi do powstania amoniaku, który jest wbudowywany w metabolity komórkowe. Najefektywniej przebiega w warunkach tlenowych (6). Bakterie denitryfikacyjne są zdolne do katabolicznej degradacji wielu pochodnych arylowych, nawet z pierścieniami heterocyklicznymi (7, 8, 9, 10). Z tego powodu istnieje możliwość doboru właściwego gatunku bakterii do potrzeb, zdolności technicznych i technologicznych poszczególnych oczyszczalni ścieków. Tym bardziej, że prowadzone badania nad biodegradacją fenoli i cyjanków z zastosowaniem metody immobilizowanych enzymów z bakterii denitryfikacyjnych (*Pseudomonas* sp.) stwarzają poważną szansę wykorzystania zdolności biochemicznych tych bakterii w oczyszczaniu biologicznym ścieków (11).

3. Redukcja azotanów w biologicznym oczyszczaniu ścieków

Wybudowana w 1988 r. na terenie dotychczasowej mechanicznej oczyszczalni ścieków dla Krakowa oczyszczalnia biologiczna typu „MEANDER” nie spełniała zakładanych wymogów. Bowiem stopień oczyszczania był w niej niezadowalający, np. w 1992 r. redukcja zanieczyszczeń wynosiła ChZT i BZT₅ ok. 60%, fosforanów 22%, azotu amonowego 57%, azotanów 33%, podczas gdy zawartość azotanów wzrastała ponad 4-krotnie. W związku z tym podjęto badania i próby w celu zintensyfikowania pożądanego procesu. „MEANDER” z osadem czynnym podzielony jest na pięć komór (wglębnych) oznaczonych numerami od 1 do 5 (rys. 2). Komory skrajne (nr 1 i 5) przystosowane są do spełniania dwóch funkcji: napowietrzania i mieszania osadu czynnego sprężonym powietrzem oraz sedymentacji osadu czynnego po wyłączeniu napowietrzania. Natomiast pozostałe komory napowietrzane są w sposób ciągły. „MEANDER” wg projektu inż. Augustyna Jelonka jest w dalszym ciągu obiektem pilotowym, obliczonym na przepustowość 288 m³/d, dlatego jego koszty eksploatacyjne nie są wyodrębniane.

3.1. Osad czynny

Kilkuletnie badania wskazują, że na biocenozę osadu czynnego powyżej opisanego „MEANDRA” składają się organizmy, które zestawiono w tab. 1. Poza wymienionymi w ściekach pobranych z tegoż „MEANDRA” stwierdzono obecność bakterii denitryfikacyjnych (12).



Rys. 2. Schemat oczyszczalni biologicznej typu „MEANDER”.

TABELA 1
MIKROBIOLOGICZNY SKŁAD OSADU CZYNNEGO

Forma	Charakterystyka. Klasyfikacja
kształt kłaczków osadu czynnego	drobne, sferyczne, liczne palczaste, występuje <i>Zooglea ramigera</i>
wymiary kłaczków	długość: ok. 10 • 110 μ szerokość: ok. 45-65 μ
inne formy bakterii niesklączkowanych	formy nitkowe — liczne formy ziarniste — 1/3 pola widzenia
glony — sinice (<i>Glaucophyta</i>)	<i>Oscillatoria</i> sp. — sporadycznie
wiciowce zwierzęce (<i>Zooflagellata</i>)	<i>Bodo</i> sp. <i>Tetramitus</i> sp. — 760 os/dm ³ <i>Oicomanas</i> sp. — 120 os/dm ³
korzenionózki (<i>Rhizopoda</i>)	<i>Amoeba proteus</i> <i>Difflugia</i> sp. — liczne
orzęski wolnopływające (<i>Holotricha</i>)	<i>Aspiofisca costata</i> — 970 os/m ³ <i>Paramecium caudatum</i> <i>Glaucoma pyriformis</i> <i>Colpidium colpoda</i> — 117 os/m ³
orzęski osiadłe (<i>Peritricha</i>)	<i>Vorticella microsfa</i> <i>Vorticella campanula</i> — masowo <i>Zoothamulum simplex</i> <i>Euplotes</i> sp. <i>Opercularia stenostoma</i> <i>Episflus laucustris</i> <i>Episflus plicatis</i>
wrotki (<i>Rotiphera</i>)	<i>Rotifer</i> sp. — sporadycznie <i>Lepedella patella</i>
nicienie (<i>Nematoda</i>)	1-2 w polu widzenia, formy niedojrzałe

3.2. Wpływ czasu sedymentowania na efektywność redukcji azotanów

Przy rozważaniu problemu zwiększenia efektywności redukcji azotanów za pożądane należy uznać dwa spośród trzech uprzednio przytoczonych szlaków biochemicznych, tj. denitryfikację całkowitą i zbiałczanie. Denitryfikacja całkowita prowadzi bowiem do wydzielenia do atmosfery nieszkodliwego azotu, zaś zbiałczanie do wzrostu biomasy. Natomiast przebieg trzeciego szlaku, z uwagi na dysymilację szkodliwego amoniaku winien być eliminowany. Ponieważ dla przebiegu procesów zbiałczania najkorzystniejsze są warunki tlenowe, podczas gdy dla denitryfikacji całkowitej warunki beztlenowe, dlatego właściwe dozowanie tlenu poprzez napowietrzanie jest bardzo istotnym parametrem technicznym. W biologicznej oczyszczalni ścieków typu „MEANDER” nie ma jednak możliwości kontrolowania dopływu strumienia powietrza. Ilość wprowadzanego powietrza można jedynie regulować poprzez zmianę czasu napowietrzania. W pierwszej serii badań naprzemiennie napowietrzanie skrajnych komór przebiegało standardowo w następującym cyklu: 5 godzin napowietrzania, 7 godzin sedymentacji i ponownie 5 godzin napowietrzania. W związku z tym określana w tej serii badań komora napowietrzania (przed pobraniem próby ścieku do oznaczenia) była uprzednio 7 godzin sedymentowana, zaś komora sedymentacyjna przez godzinę podlegała sedymentowaniu po uprzednim 5-godzinym napowietrzaniu. W trakcie badań wykonywano oznaczenia zawartości następujących składników: azotanów (NO_3^- — stosując metodę kolorymetryczną z wykorzystaniem spektrofotometru firmy Hack), azotynów (NO_2^- — także metodą kolorymetryczną) amoniaku (NH_4^+ — metodą destylacji) (13) oraz tlenu rozpuszczonego (za pomocą elektrody YAI 5720 i tlenomierza YSI 50B). Próby były pobierane równolegle z obu komór skrajnych, z około 2 m (tj. w połowie) głębokości. Pomiary powtórzone, obejmując nimi także komory napowietrzane w sposób ciągły. Na podstawie wykonanych analiz zawartości azotanów przeprowadzono obliczenia wskaźników ich redukcji: stopnia redukcji [$\Delta = (c_1 - c_2) \times 100\%$] i średniej szybkości redukcji [$(c_1 - c_2) \times h^{-1}$].

Na podstawie otrzymanych wyników okazuje się, że w obu komorach naprzemiennie napowietrzanych mogą przebiegać procesy zarówno denitryfikacji jak i nitryfikacji (utlenianie NH_4^+ do NO_3^-). Jednakże w komorze napowietrzania przeważa proces nitryfikacji, czego dowodzą dodatnie wartości stopnia redukcji (tab. 2 i 3). Niekiedy nitryfikacja może mieć charakter ciągły o czym świadczy stwierdzony stały wzrost koncentracji azotanów i azotynów podczas całego okresu napowietrzania (tab. 2). Natomiast w komorze sedymentacyjnej przeważają procesy denitryfikacji na co wskazują zarówno średnie zawartości NO_3^- jak i ujemne wartości stopnia redukcji (tab. 2 i 3). W komorach stale napowietrzanych nieznacznie wykazują procesy redukcyjne azotanów (tab. 4).

Podczas drugiej serii badań w komorach skrajnych wydłużono okres sedymentacji (i równolegle napowietrzania) do trzynastu godzin, nie zmieniając cyklu poprzedzającego. Oznaczenia interesujących składników wykonywano co dwie godziny równolegle dla obu komór (napowietrzania i sedymentacji).

W ciągu pierwszych czterech godzin trwania próby w obu komorach obserwuje się spadek zawartości azotanów. Jednak w szóstej godzinie zaznaczył się gwałtowny wzrost NO_3^- , przy czym w komorze sedymentacyjnej wystąpiła skokowa zmiana poziomu tlenu z 6,63 na 2,04 mg/dm³ (tab. 5). W ciągu dalszych czterech godzin w obu komorach wystąpiła ponownie redukcja azotanów.

W komorze napowietrzania w momencie jego włączenia zawartość O_2 wynosiła 5,4 mg/dm³ i zwiększała się w miarę dopływu powietrza do 8,9 mg/dm³ (tab. 5), podczas gdy w komorze sedymentacyjnej stężenie tlenu utrzymywało się na poziomie około 6,0 mg/dm³, poza wspomnianym wahnięciem. Najbardziej interesujące są obliczone wartości obu wskaźników świadczące, że w komorze napowietrzania proces redukcji azotanów przebiegał z nieco większą efektywnością niż w komorze sedymentowanej mimo niższej średniej zawartości tlenu (tab. 5). Przyczyny tego można by upatrywać w większej aktywności bakterii denitryfikacyjnych występujących w komorze wówczas napowietrzanej.

3.3. Zwiększenie efektywności redukcji azotanów

W tej części badań wykonano dwojakiego rodzaju próby. Jedne z nich polegały na wprowadzeniu do komory sedymentacyjnej (o pojemności 58 m³) ścieku z osadem surowym w ilości ok. 800 dm³ („zaszczepienie” osadem surowym). Stosunek objętościowy ścieku i osadu surowego do ścieku wypełniającego komorę sedymentacyjną wynosił 1:72,5. Proces sedymentacji trwał dwaście godzin. Zawartość azotanów, azotynów, amoniaku i tlenu oznaczano co 3 godziny (poczynając od momentu zaszczerpienia) przez pół doby. Uzyskane w tych próbach wyniki dowodzą, że aktywność bakterii redukujących azotany jest wysoka przez cały (objęty badaniami) okres sedymentacji (tab. 6). Wprawdzie przez pierwszych siedem godzin wzrasta zawartość azotynów, jednak potem następuje ich obniżenie. Natomiast koncentracja amoniaku, a jeszcze bardziej azotanów ulega ciągłemu zmniejszaniu, co może dowodzić przebiegu procesu denitryfikacji całkowitej, tj. do azotu cząsteczkowego. Jednakże jednoznaczne stwierdzenie obecności azotu czy tlenków azotu, będących metabolitami pośrednimi w tym szlaku, było niemożliwe z uwagi na brak chromatografu gazowego, niezbędnego do tego typu analiz. Wzrost aktywności bakterii redukujących azotany mógł nastąpić na skutek wprowadzenia, wraz z osadem surowym, związków organicznych, głównie węglowodanów, stanowiących źródło energii i węgla dla heterotroficznych denitryfikatorów.

W drugiej serii prób osad czynny w komorze sedymentacyjnej zaszczerpiono przygotowanymi kulturami bakterii denitryfikacyjnych (*Bacillus stearothermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. stutzeri*). Łączna objętość wymienionych kultur wynosiła 150 dm³, a zatem stosunek objętościowy wprowadzonych kultur denitryfikatorów do ścieku znajdującego się w komorze wynosił 1:387. Podczas 10-godzinnego okresu sedymentacji wykonywano oznaczenia zawartości interesujących składników co 2 godziny. Następnego dnia przeprowadzo-

TABELA 2
ANALIZA FIZYKOCHEMICZNA ŚCIEKÓW Z KOMÓR NAPRZEMIENIE SEDYMENTOWANYCH I NAPOWIETRZANYCH¹

Pobór próby: godzina	Temperatura °C		Komora „1”						Komora „5”					
	„1”	„5”	NO ₃ ⁻		NO ₂ ⁻		NH ₃ mg/dm ³	O ₂ mg/dm ³	NO ₃ ⁻		NO ₂ ⁻		NH ₃ mg/dm ³	O ₂ mg/dm ³
			mg/dm ³	μM	mg/dm ³	μM			mg/dm ³	μM	mg/dm ³	μM		
9	13	13	1,7	121,40	0,01	0,217	noz	2,5	0,8	57,12	0,01	0,217	5,6	6,70
10	14	14	1,5	107,10	0,17	3,695	noz	3,6	1,5	107,10	0,22	4,782	noz	6,90
11	14	14	1,6	114,23	0,18	3,912	24,0	2,5	1,7	121,40	0,24	5,216	28,0	4,01
12	13	14	1,9	135,65	0,20	4,347	noz	2,3	1,8	128,50	0,25	5,434	noz	4,5
13	14	18	2,0	142,80	0,23	4,999	2,8	4,7	3,0	214,20	0,30	6,521	11,2	4,9
14	14	17	1,2	85,67	0,25	5,434	noz	4,9	3,2	228,50	0,32	6,955	noz	6,3
X			1,6	117,8				3,4	2,0	142,8				5,6
Δ			-29,4%						+300%					
15	14	16	1,4	99,95	0,29	6,304	noz	2,1	1,7	121,40	0,33	7,173	noz	6,50
16	15	16	-	-	0,40	8,695	noz	7,0	1,4	99,95	0,31	6,738	noz	4,50
17	14	16	1,7	121,40	0,36	7,816	noz	6,5	1,9	135,65	0,35	7,607	noz	2,10
18	14	15	1,9	135,65	0,38	8,259	noz	6,5	1,8	128,50	0,37	8,042	noz	2,50
19	14	15	1,8	128,50	0,34	7,390	noz	6,7	1,7	121,40	0,36	7,825	noz	2,00
20	14	15	1,7	121,40	0,33	7,173	noz	6,9	1,3	92,81	0,42	9,129	noz	2,10
X			1,7	121,40				6,0	1,6	116,6				
Δ			+21,5%						-23,6%					
opadalność osadu			650 cm ³ /dm ³		650 cm ³ /dm ³								650 cm ³ /dm ³	
indeks objętościowy osadu czynnego			160 cm ³ /g		160 cm ³ /g								150 cm ³ /g	

¹ Próby pobierane z głębokości około 2 m 1992.10.15, komora „1” — godz. 8⁰⁰ i 15⁰⁰ sedymentowana, 15⁰⁰-20⁰⁰ — napowietrzana; komora „5” — 9⁰⁰-14⁰⁰ napowietrzana, 14⁰⁰-20⁰⁰ sedymentowana; noz. — nie oznaczono; X — średnia w czasie pomiaru; Δ — różnica w zawartości azotanów między pierwszym a ostatnim pomiarem, wyrażona w %.

TABELA 3
ANALIZA FIZYKOCHEMICZNA ŚCIEKÓW Z KOMÓR NAPRZEMIENIENIE SEDYMENTOWANYCH I NAPOWIETRZNYCH¹

Godzina poboru próby	Temperatura °C		Kmhora „1”				Kmhora „5”							
	„1”	„5”	NO ₃ ⁻ mg/dm ³	NO ₂ ⁻ mg/dm ³	NH ₃ mg/dm ³	O ₂ mg/dm ³	NO ₃ ⁻ mg/dm ³	NO ₂ ⁻ mg/dm ³	NH ₃ mg/dm ³	O ₂ mg/dm ³				
9	10	9	2,2	157,10	0,328	23,42	9,00	8,9	2,3	164,20	0,322	22,99	27,50	9,00
11	9	11	3,2	228,50	0,322	22,90	16,00	7,8	2,6	185,60	0,155	11,07	11,00	10,00
13	9	12	2,2	157,10	0,333	23,77	16,00	8,2	2,8	199,90	0,319	22,77	7,00	9,60
X			2,5	180,9				8,3	2,6	183,2				
Δ			0,00%						+21,7%					
9	15	14	1,3	92,81	0,338	24,13	noz	5,29	2,8	199,90	0,174	12,42	noz	1,31
11	15	16	1,2	85,67	0,338	24,13	noz	6,37	2,9	207,04	0,090	6,43	noz	1,66
13	16	17	1,4	99,95	0,177	12,64	16,90	6,65	2,5	178,49	0,097	6,93	5,60	1,03
X			1,3	92,8				6,1	2,7	195,1				1,33
Δ			+7,7%						-10,7%					
opadalność osadu			160 cm ³ /dm ³				270 cm ³ /dm ³				5,3 μM/h			
średnia szybkość redukcji			sedymentacyjna				napowietrzana				sedymentacyjna			
15	16	18	1,7	121,37	0,179	12,78	17,36	6,58	1,7	121,37	0,099	7,07	14,56	1,45
17	16	15	2,1	149,93	0,180	12,85	noz	5,84	1,6	114,23	0,215	15,35	noz	3,89
19	17	14	1,5	107,09	0,378	26,99	11,20	5,20	0,6	42,84	0,584	41,69	10,08	4,18
X			1,8	126,0				5,9	1,3	92,8				3,2
Δ			-11,8%						-64,7%					
średnia szybkość redukcji			3,6 μM/h				19,6 μM/h							

¹ Próby były pobrane z głębokości około 2 m 1993.01.23, a następnie 1993.03.22, włączenie napowietrzania o godz. 9⁰⁰ i 15⁰⁰; noz — nie oznaczono; X — średnia w okresie pomiaru, Δ - różnica w zawartości azotanów między pierwszym a ostatnim pomiarem wyrażona w %.

TABELA 4
ANALIZA FIZYKOCHEMICZNA ŚCIEKÓW Z KOMÓR NAPOWIETRZANYCH W SPOSÓB CIĄGLY

Godzina poboru próby	Temperatura °C	Zawartość NO ₃ ⁻		Zawartość NO ₂ ⁻		NH ₃ mg/dm ³	O ₂ mg/dm ³
		mg/dm ³	µM	mg/dm ³	µM		
9	13.8 ÷ 14.0 13.9	2.0 ÷ 2.6 2.3	142.79 ÷ 185.63 164.21	0.336 ÷ 0.412 0.363	23.99 ÷ 29.41 25.94	15.2 15.2	5.90 ÷ 6.05 5.97
11	15.2 ÷ 15.5 15.3	2.0 ÷ 2.7 2.3	142.79 ÷ 192.76 166.59	0.150 ÷ 0.432 0.251	10.71 ÷ 30.84 17.92	15.2 15.2	5.76 ÷ 5.92 5.82
13	14.3 ÷ 14.7 14.5	1.8 ÷ 2.3 2.1	128.51 ÷ 164.21 147.55	0.159 ÷ 0.448 0.261	11.35 ÷ 31.98 18.65	-	6.29 ÷ 7.13 6.61
15	15.3 ÷ 15.8 15.5	1.9 ÷ 2.2 2.1	135.65 ÷ 157.07 146.36	0.178 ÷ 0.460 0.273	12.71 ÷ 32.84 19.47	-	4.45 ÷ 5.11 4.87
17	14.5 ÷ 15.9 15.2	0.9 ÷ 2.3 1.7	64.25 ÷ 164.21 118.99	0.190 ÷ 0.540 0.321	13.56 ÷ 35.55 22.94	-	3.58 ÷ 4.77 4.08
19	14.9 ÷ 16.3 15.5	1.5 ÷ 2.1 1.9	107.09 ÷ 149.93 135.65	0.500 ÷ 0.528 0.511	35.70 ÷ 37.70 36.51	-	3.97 ÷ 5.22 4.40
X		1.8 ÷ 2.3 2.0	128.5 ÷ 166.6 145.6				5.11 ÷ 5.53 5.29
Δ			8.7% ÷ 25.0% 17.8%				

min. ÷ maks.
średnia

X — średnia w okresie pomiaru; Δ — różnica zawartości azotanów między pierwszym a ostatnim pomiarem wyrażona w %.

TABELA 5
ANALIZA FIZYKOCHEMICZNA ŚCIEKÓW ZE SKRAJNYCH KOMÓR O WYDŁUŻONYM CZASIE SEDYMENTACJI I NAWIEWIETRZANIA¹

Godzina poboru próby	Temperatura °C		Sedymentacyjna						Napowietrzana					
	SED	NAP	NO ₃ ⁻		NO ₂ ⁻		NH ₃ mg/dm ³	O ₂ mg/dm ³	NO ₃ ⁻		NO ₂ ⁻		NH ₃ mg/dm ³	O ₂ mg/dm ³
			mg/dm ³	µM	mg/dm ³	µM			mg/dm ³	µM	mg/dm ³	µM		
9	12	14	1,9	135,6	0,195	13,92	noz	6,00	2,6	185,6	0,228	16,28	noz	5,40
11	17	16	1,6	114,2	0,211	15,10	14,00	5,70	1,4	99,95	0,238	17,00	11,20	7,28
13	13	14	1,3	92,8	0,212	15,14	12,00	6,63	1,3	92,8	0,226	16,13	12,00	8,91
15	15	16	2,2	157,1	0,141	10,07	noz	2,04	2,4	171,3	0,271	19,35	noz	8,91
17	12	13	1,5	107,1	0,230	16,42	noz	6,90	2,2	157,1	0,290	20,70	noz	8,04
19	14	13	1,3	92,8	0,201	14,35	noz	6,60	1,7	121,4	0,282	20,10	noz	8,66
X			1,6	116,6				5,6	1,9	138,2				7,9
Δ			-31,6%						-34,6%					
opadalność osadu			70 cm ³ /dm ³											
średnia szybkość redukcji			4,3 µM/h											
			6,4 µM/h											

¹ Próby były pobrane z głębokości około 2 m, 1993.01.19, napowietrzanie trwało od godz. 9⁰⁰ do 20⁰⁰, zaś sedymentacja od 8⁰⁰ do 21⁰⁰; noz — nie oznaczono, X — średnia w okresie pomiaru, Δ - różnica w zawartości azotanów między pierwszym a ostatnim pomiarem wyrażona w %.

no badania kontrolne, ale komora ta była wówczas napowietrzana. Otrzymane wyniki wskazują, że po godzinie od zaszczepienia wzrosła koncentracja zarówno azotanów jak i azotynów (tab. 6). Zjawisko to było prawdopodobnie spowodowane wprowadzeniem NO_3^- i NO_2^- wraz z pożywką denitryfikatorów. W następnych godzinach sedymentacji stężenie azotanów stopniowo malało. Zawartość tlenu ulegała jedynie nieznacznym wahaniom. Badania przeprowadzone po 24 godzinach wskazywały na dalszy spadek koncentracji azotanów, przy jednoczesnym wzroście poziomu azotynów, mimo ponad dwukrotnego wzrostu zawartości tlenu (tab. 6). Obliczone wielkości wskaźnikowe (stopień redukcji azotanów -9,9 % , a w następnym dniu -20,8 % oraz średnia szybkość redukcji 16,7 $\mu\text{M}/\text{h}$ i po 24 h 37,5 $\mu\text{M}/\text{h}$) wskazują na dość wysoką efektywność denitryfikacji.

4. Dyskusja i wyniki

W dotychczasowej praktyce oczyszczania biologicznego ścieków komunalnych oraz z zakładów przemysłu spożywczego preferowano procesy tlenowego rozkładu organicznych substancji zanieczyszczających. Jest to zrozumiałe ze względu na szybszy przebieg biochemicznych procesów degradacji związków organicznych w warunkach aerobowych niż anaerobowych u mikroorganizmów uczestniczących w biologicznym oczyszczaniu. Poza tym, przebieg procesów gnilnych, którym sprzyjają właśnie warunki beztlenowe, przyjęło się uważać za niekorzystne. Stąd napowietrzanie ścieków było bardzo ważnym etapem w technologii ich biologicznego oczyszczania, a starania projektantów i pracowników oczyszczalni zmierzały raczej w kierunku jego intensyfikacji. Tymczasem zjawisko eutrofizacji zmusza do korekty dotychczasowych poglądów i poszukiwania nowych rozwiązań. Wszelkie sposoby chemicznego zmniejszenia zawartości składników eutrofogennych (azotanów, fosforanów, substancji organicznych) przez wiązanie ich z dodatkowo wprowadzonym związkiem chemicznym są niewątpliwie wygodne i nawet szybkie, ale z ekologicznego punktu widzenia niewłaściwe. Zdaniem autorów znacznie trafniejsze jest opracowanie technologii doczyszczania ścieków z azotanów bądź fosforanów na drodze biotechnologicznej.

Opisane próby poprzedzone badaniami (12) dowodzą możliwości zintensyfikowania redukcji azotanów przy udziale bakterii denitryfikacyjnych. Redukcja azotanów przebiegająca szlakiem asymilacyjnym (inaczej zbiałczania — rys. 1), który jest powszechnie spotykanym wśród mikroorganizmów, a także roślin, wymaga warunków tlenowych. Z tego względu obserwowane niekiedy zmniejszenie stężenia azotanów w trakcie napowietrzania komór (zarówno naprzemiennie jak i stale) przy równoczesnym spadku zawartości NH_3 można by przypisać właśnie zbiałczaniu (tab. 3, 4, 5). Podczas napowietrzania może przebiegać proces denitryfikacji, ale tylko częściowej, tj. z wydzieleniem do środowiska szkodliwego amoniaku (tab. 3). Bakterie redukujące siarczyn występujące w osadzie czynnym (12) są bowiem zdolne do przeprowadzania

TABELA 6
ANALIZA CHEMICZNA ŚCIEKÓW PO ZASZCZEPIENIU DENITRYFIKATORAMI

A

Godzina poboru próby	Temperatura °C	Zawartość					
		NO ₃ ⁻		NO ₂ ⁻		NH ₃	O ₂
		mg/dm ³	μM	mg/dm ³	μM	mg/dm ³	mg/dm ³
9	17,1	3,1	242,74	0,231	16,49	10,08	3,38
12	17,1	2,1	149,93	0,382	27,27	5,60	1,40
15	18,5	2,0	142,79	0,912	65,11	8,40	1,49
18	17,3	1,3	92,81	0,746	53,26	5,20	2,34
\bar{X}		2,1	157,07				2,15
Δ			-61,8%				
średnia szybkość redukcji			16,7 μM/h				

ściek z osadem surowym wprowadzony o godz. 8⁰⁰ w objętości około 800 dm³

B₁

11	20,6	10,1	721,083	1,840	131,37	—	2,68
13	23,7	9,8	699,665	2,384	170,20	—	3,24
15	20,8	9,5	678,247	2,096	149,64	—	3,16
17	19,4	9,3	663,968	2,128	151,93	—	3,03
19	18,7	9,1	649,689	2,080	148,50	—	2,78
\bar{X}		9,6	682,530				2,98
Δ			-9,9%				
średnia szybkość redukcji			8,9 μM/h				

mieszana kultura denitryfikatorów wprowadzona o godz. 9⁰⁰ w objętości ok. 150 dm³

B₂

9	22,1	10,1	721,083	0,247	17,63	—	7,09
11	23,0	9,0	642,550	0,300	21,42	—	8,50
13	23,0	8,0	571,155	0,720	51,40	—	8,25
\bar{X}		9,0	644,929				7,95
Δ			-20,8%				
średnia szybkość redukcji			37,5 μM/h				

Analizy wykonywane po 24 h od wprowadzenia kultury denitryfikatorów: A i B₁ były komorami sedymentacyjnymi, natomiast B₂ — komorą napowietrzania.

procesu denitryfikacji częściowej właśnie w warunkach tlenowych (3). Amoniak w warunkach intensywnego napowietrzania może być ponownie przekształcony w azotyny, a dalej azotany przy udziale bakterii nityfikacyjnych (4,5,6). Obecność wymienionych bakterii stwierdzano wcześniej (12). Tak zatem żaden z biochemicznych procesów, przebiegających w warunkach tlenowych, zwłaszcza intensywnego napowietrzania, nie prowadził do założonego celu. Potwierdzają to uzyskane wyniki z przeprowadzonych analiz chemicznych ścieków z komór skrajnych, w aktualnie stosowanym 6-godzinnym cyklu naprzemiennego ich napowietrzania (tab. 2, 3 — patrz komory napowietrzania — i tab. 4). Obliczone wielkości wskaźnikowe: stopień redukcji (Δ) wyrażony w procentach i średnia szybkość redukcji, dowodzą braku występowania procesu denitryfikacji. Można by oczekiwać, że pożądana redukcja azotanów na szlaku denitryfikacji całkowitej (do azotu cząsteczkowego) zachodzi podczas sedymentacji. Porównanie wyników uzyskanych dla prób pobranych z komór naprzemiennie napowietrzanych i sedymentowanych, wskazuje na nieznaczne obniżenie koncentracji azotanów już po czterogodzinnej sedymentacji. Jednakże stopień redukcji azotanów nie przekracza — 30% w stosunku do ich początkowej wartości (tab. 2 i 3). Stąd i średnia szybkość redukcji, nawet w trakcie sedymentacji jest niewielka, gdyż wynosi od 3,6 do 7,4 $\mu\text{M}/\text{h}$.

Zaskakująco korzystne wyniki jakie otrzymano dla ścieków jednej z komór napowietrzania (tab. 3) należy tłumaczyć bardzo niskim poziomem tlenu, szczególnie w początkowej fazie napowietrzania, spowodowanym najprawdopodobniej jego zużyciem podczas poprzedzającej fazy sedymentacji w tejże komorze. Dlatego w kolejnej próbie wydłużono fazę sedymentacji, której czas trwania ustalono na podstawie wcześniej przeprowadzonych badań (12). W efekcie tej próby stwierdzono, że wprawdzie wartość stopnia redukcji wzrosła, to jednak jego średnia szybkość nie uległa pożądanej zmianie (tab. 5). Przyczyny nieco wyższej efektywności redukcji azotanów w komorze napowietrzania w porównaniu z komorą sedymentacyjną należałoby upatrywać w bardziej odpowiednim składzie biocenozy osadu czynnego, występującego w komorze napowietrzania. W komorze napowietrzania mogły być obecne rzadkie szczepy denitryfikatorów, których denitryfikacyjna reduktaza azotanowa nie jest tak wrażliwa na działanie tlenu. U większości bowiem denitryfikatorów wspomniany enzym, katalizujący pierwszy etap interesującego szlaku (rys. 1), jest inhibitowany tlenem (6, 15). Na podstawie przeprowadzonych badań, autorom nasunęło się przypuszczenie, że tlen nie tylko jest inhibitorem denitryfikacyjnej reduktazy azotanowej, ale może także hamować syntezę tegoż enzymu, poprzez aktywowanie białka represorowego i w następstwie tego uniemożliwia odczytanie zapisu z genu kodującego strukturę tegoż enzymu. Innym enzymem szlaku denitryfikacji całkowitej aktywnym jedynie w warunkach bezwzględnie beztlenowych jest reduktaza N_2O (14, 15). Stąd niezbędne wydawało się wydłużenie okresu sedymentacji, a słuszność takiego posunięcia potwierdziły omówione wyniki.

Dalsze próby obejmowały „wzbogacenie” osadu czynnego „MEANDRA” w kultury mieszane mikroorganizmów, zwłaszcza chodziło o bakterie denitryfi-

kacyjne. Przeprowadzone w pierwszej serii wprowadzenie kultury mieszanej z osadem surowym miało na celu dostarczenie denitryfikatorom znajdującym się w „MEANDRZE” substratów energetycznych. Po wprowadzeniu osadu surowego stwierdzono znacznie wyższy stopień redukcji azotanów (-61,8%) oraz średnią szybkość redukcji (16,7 $\mu\text{M/h}$ — tab. 6 A) niż w badaniach w trakcie „standardowego” 6-godzinne go cyklu naprzemiennego napowietrzania.

W drugiej serii prób, jeszcze w kilka godzin od momentu wprowadzenia wcześniej przygotowanej kultury denitryfikatorów (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri* i *Bacillus stearothermophilus*) nie stwierdzono zadowalających zmian. Jednak wartości obu wskaźników przebiegu procesu redukcji azotanów obliczone na podstawie analiz przeprowadzonych po 24 godzinach okazały się znacznie korzystniejsze. Szczególnie, bo około 4-krotnie wzrosła średnia szybkość redukcji, mimo że w tym czasie komora ta była już komorą napowietrzania (tab. 6 B₂). Należy jednak zauważyć, że w obu próbach „wzbogacania” osadu czynnego wraz z wprowadzeniem kultur wzrasta poziom azotanów. W przypadku przygotowywanych kultur trzech wymienionych szczepów bakterii denitryfikacyjnych jest to tyle zrozumiałe, że azotany w dość dużym stężeniu znajdowały się w ich pożywce.

W związku z tym nasuwają się następujące wnioski:

- w celu zwiększenia efektywności denitryfikacji w oczyszczalniach ścieków komunalnych należy osad czynny „wzbogacić” w kultury denitryfikatorów;
- bakterie denitryfikacyjne winny być głodzone, co najmniej w ostatnim etapie ich przygotowania;
- najkorzystniejszym ze względów technologicznych byłoby wzbogacanie osadów czynnych takimi szczepami denitryfikatorów, których denitryfikacyjna reduktaza azotanowa (a także enzymy dalszych etapów szlaku denitryfikacji) nie są inhibitowane tlenem.

To ostatnie rozwiązanie z różnych względów, zwłaszcza technicznych, jak się wydaje, jest najbardziej celowe. W związku z tym dalsze badania naszego zespołu będą zmierzały w tym kierunku.

Literatura

1. Raport OECD z 1982 r., za: Kawecka B., Elorante P. V., (1994), *Zarys ekologii glonów wód słodkich i środowisk lądowych*, PWN, Warszawa.
2. Rowland I. R., (1988), in: *The Toxicology of N-nitroso Compounds; Nitrosamines*, Ed. Hill M. J., Chichester, Ellis Horwood and VCH.
3. Dannenberg S., Kroder M., Dilling W., Cypionka H., (1992), *Arch. Microbiol.*, 158, 93-99.
4. Barabasz W., (1991), *Post. Mikrobiol.*, 30, 395-410.
5. Barabasz W., (1992), *Post. Mikrobiol.*, 31, 3-33.
6. Barabasz W., (1985), *Post. Mikrobiol.*, 24, 83-101.
7. Altenschmidt U., Fuchs G., (1991), *Arch. Microbiol.*, 156, 152-158.
8. Foght J.M., Westlake D.W.S., (1988), *Can. J. Microbiol.*, 34, 1135-1141.
9. Gorny N., Wahl G., Brune A., Schink B., (1992), *Arch. Microbiol.*, 158, 48-53.

10. Schocher R. J., Seyfried B., Vazquez F., Zeyer J., (1991), Arch. Microbiol., 157, 7-12.
11. Bodzek M., Bohdziewicz J., Kowalska M., (1993), Biotechnologia, 2(21), 121-133.
12. Pado R., Paśmionka I., Pawłowska-Ćwięk L., Starzyk K., (oddane do druku), Acta Hydrobiol.
13. Hermanowicz W., Dożańska W., Dojlido J., Koziorowski B., (1976), *Fizykochemiczne metody badania wody i ścieków*, Arkady, Warszawa.
14. Voßwinkel R., Neidt I., Bothe H., (1991), Arch. Microbiol., 156, 62-69.
15. Tiedje J. M., (1988), in: *Ecology of Denitrification and Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium; Biology of Anaerobic Microorganisms*, Ed. Zehnder A. J. B., New York, Chichester, Wiley-Liss, 179-244.

Autorzy wyrażają serdeczne podziękowania mgr. Mieczysławowi Błaszczykowi z Zakładu Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Warszawskiego za użyczenie szczepów bakterii denitryfikacyjnych.

Attempts to increase the efficiency of nitrate reduction process in biological municipal sewage treatment "MEANDER"

Summary

In this work the attempts to increase the efficiency of nitrate reduction in denitrifying bacteria cells were made. The experiments were carried out in biological municipal sewage treatment plant "MEANDER". Two different tests were used. One procedure was based on the prolongation of the sedimentation time in order to decrease the level of inhibiting O_2 in the sewage (it is respiration by aerobic microorganisms). The level of NO_3^- was increased in this test compared to 6 h "standard" alternate sedimentation/aeration, but the speed of nitrate reduction was not so satisfactory. The other procedure involved attempts to increase the number of denitrifying bacteria in the sedimented chamber. The denitrifying bacteria originated from raw sewage-sludge or from a prepared in advance culture of *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aerogenes* and *Bacillus* sp. The effects in both tests show the increase in speed of nitrate reduction, particularly after 24 h from the addition of the culture prepared in advance. However, the disadvantage of the second way was introducing additional NO_3^- together with the bacteria.

key words:

denitrification, biological sewage treatment in "MEANDER"

Adres dla korespondencji:

Ryszard Pado, Zakład Mikrobiologii WSP, ul. Podbrzezie 3, 31-054 Kraków.