

Grzegorz ŁAGÓD<sup>1</sup>, Roman BABKO<sup>2</sup>, Katarzyna JAROMIN<sup>1</sup> i Tatyana KUZMINA<sup>3</sup>

## ZMIANY W STRUKTURZE ZBIOROWISKA PIERWOTNIAKÓW OSADU CZYNNEGO W ZRÓŻNICOWANYCH WARUNKACH TLENOWYCH

### CHANGES IN STRUCTURE OF ACTIVATED SLUDGE PROTOZOA COMMUNITY AT THE DIFFERENT OXYGEN CONDITION

**Abstrakt:** Praca przedstawia wyniki badań prowadzonych w laboratoryjnym bioreaktorze SBR, symulującym warunki występujące w przypadku awarii urządzeń stanowiących wyposażenie bioreaktora (systemu mieszania i systemu napowietrzania). Analizowano skład chemiczny ścieków, w tym stężenia związków azotu (azot amonowy, azotany(III) i azotany(V)), a także stężenia związków organicznych wyrażanych jako ogólny węgiel organiczny (OWO) i węgiel całkowity. Oprócz wskaźników chemicznych analizowany był również zespół organizmów osadu czynnego. W pobieranych próbkach określano ilość pierwotniaków (ameby nagie, ameby skorupkowe, wiciowce i orzęski) oraz sumaryczną ilość osobników w wymienionych grupach morfologiczno-funkcjonalnych. Każdą z trzech serii pomiarowych prowadzonych dla różnych warunków procesowych powtarzano trzykrotnie. W eksperymencie wykorzystano osad czynny pobierany z oczyszczalni ścieków Hajdów w Lublinie. Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że liczebności analizowanych zbiorowisk orzęsków oraz ameb nągich wykazują związek ze stężeniem tlenu, pH oraz wartością OWO. Jednakże reakcje poszczególnych grup morfologiczno-funkcjonalnych oraz gatunków wchodzących w skład badanych grup na te czynniki są różne, co przejawia się w dodatnim lub ujemnym związkiem.

**Słowa kluczowe:** bioreaktor typu SBR, bioindykatory, pierwotniaki, oczyszczanie ścieków, stężenie tlenu, wskaźniki zanieczyszczeń

Bioreaktory do oczyszczania ścieków metodą osadu czynnego, funkcjonujące w warunkach laboratoryjnych, umożliwiają prowadzenie eksperymentów dla standardowych warunków technologicznych. W układach ze zintegrowanym usuwaniem węgla, azotu i fosforu zapewniają naprzemienne warunki beztlenowe, anoksydacyjne i tlenowe [1-3]. Umożliwiają również prowadzenie badań w warunkach, do których eksploatacyjni starają się nie dopuszczać w oczyszczalniach ścieków, gdyż mogą one wywołać zaburzenia procesów oczyszczania biologicznego. Należą do nich sytuacje awaryjne, np. uszkodzenie mieszadeł lub wyłączenie systemu napowietrzania. Takie warunki, rzadko występujące w urządzeniach w skali technicznej i charakteryzujące się znacznym przekroczeniem standardowych wartości ważniejszych parametrów procesowych, są interesujące z naukowego punktu widzenia i pozwalają uzyskać informacje na temat wpływu wybranych czynników na organizmy osadu czynnego. Stąd też w laboratoryjnym bioreaktorze SBR prowadzony był cykl eksperymentów symulujących sytuacje występujące w przypadku awarii urządzeń stanowiących wyposażenie bioreaktora (systemu mieszania i systemu napowietrzania). W trakcie trwania eksperymentu temperatura

<sup>1</sup> Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Lubelska, ul. Nadbystrzycka 40B, 20-618 Lublin, Polska, tel. 81 538 43 22, email: G.Lagod@wis.pol.lublin.pl

<sup>2</sup> Instytut Zoologii im. I.I. Schmalhausena Narodowej Akademii Nauk Ukrainy, ul. B. Chmielnickiego 15, Kijów, 01601, Ukraina, email: rbabko@ukr.net

<sup>3</sup> Sumski Uniwersytet Państwowy, ul. M. Rymskiego-Korsakowa 2, Sumy, 40007, Ukraina, email: kuzmina\_tm@ukr.net

utrzymywana była w zakresie 20÷21°C. Badane było również stężenie związków azotu (azot amonowy, azotany(III) i azotany(V)), a także ogólny węgiel organiczny (OWO) i węgiel całkowity oraz pH. Oprócz wskaźników fizykochemicznych badany był zespół organizmów osadu czynnego. W pobieranych próbkach zliczana była ilość przedstawicieli gatunków pierwotniaków (ameby nagie, ameby skorupkowe, wiciowce i orzęski) oraz sumaryczna ilość osobników w wymienionych grupach morfologiczno-funkcjonalnych [4, 5]. Każda z trzech serii pomiarowych, prowadzonych dla różnych warunków procesowych, powtarzana była trzykrotnie - jednakże kolejny cykl eksperymentu rozpoczynał się przy podobnych ilościowych i jakościowych charakterystykach osadu czynnego pobieranego z kanału recyrkulacji miejskiej oczyszczalni ścieków Hajdów w Lublinie. Eksperyment prowadzono, korzystając ze ścieków komunalnych po wstępnym oczyszczeniu w części mechanicznej - punkt pobrania usytuowany był na wylocie z osadnika wstępnego wspomnianej oczyszczalni.

### **Materiał i metody**

Materiałem wykorzystywanym w analizach biologicznych był osad czynny pobierany z komór bioreakcji typu SBR pracujących w warunkach laboratoryjnych. Objętość czynna każdej z trzech termostatowanych komór SBR wynosiła 8 dm<sup>3</sup>. Zliczanie organizmów następowało bezpośrednio po pobraniu próbek osadu z komór bioreakcji. Zliczenia prowadzone były co najmniej w trzech powtórzeniach, subpróbki analizowane były dla objętości 50 mm<sup>3</sup> (czyli razem 150 mm<sup>3</sup>). Pięć lub siedem powtórzeń wykonywano w przypadkach, gdy znacznie spadała ilość organizmów w próbce. Po wykonaniu zliczeń obliczano ilość organizmów przypadających na 1 cm<sup>3</sup>.

Każdą z trzech serii powtórzeń, które dotyczyły trzech komór bioreakcji, prowadzono dla różnych warunków procesowych. W trakcie trwania eksperymentu nie dostarczano do układu laboratoryjnego nowych porcji ścieków. Otrzymane wyniki końcowe stanowią uśrednienie rezultatów trzech powtórzeń dla każdej serii eksperymentu.

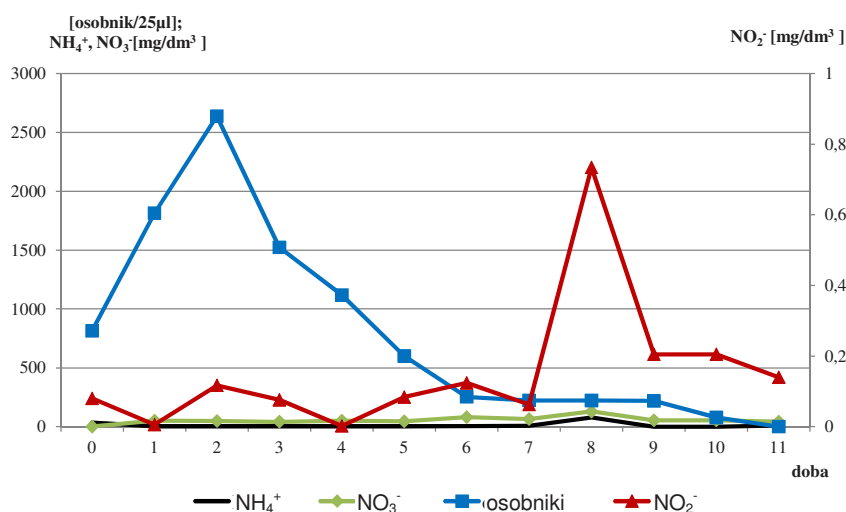
Trzy równoległe prowadzone serie eksperymentu realizowane były w termostatowanych bioreaktorach typu SBR opisanych jako:

1. Komora napowietrzana. W trakcie trwania eksperymentu pierwsza komora SBR była ciągle napowietrzana (utrzymywano bardzo wysokie stężenie tlenu, w granicach około 90% saturacji).
2. Komora mieszana. Druga komora SBR pozbawiona była napowietrzania sprężonym powietrzem i następowało w niej tylko mieszanie mechaniczne. Powodowało ono utrzymywanie się stężenia tlenu rozpuszczonego w przedziale 0,5÷1 mg/dm<sup>3</sup>.
3. Komora kontrolna. Trzecia komora SBR pozbawiona była zarówno napowietrzania, jak i mieszania mechanicznego. Osad pozostawał w warunkach zbliżonych do beztlenowych i mieszany był w objętości komory na czas pobierania próbek w celu homogenizacji całej objętości.

### **Wyniki i ich omówienie**

Zwykle szybkość zmiany liczebności organizmów jest funkcją dwu procesów - namnażania i obumierania. Co do pierwotniaków, to ich liczebność zmienia się nie tylko na skutek namnażania bądź śmierci komórek, lecz także w rezultacie zwolnienia komórek

z cyst oraz przechodzenia komórek w stan cyst. Stąd też szybkość zmiany liczebności aktywnych przedstawicieli tych organizmów jest zależna nie tylko od czasu podziału komórki, ale także od czasu tworzenia cyst oraz powrotu komórki do stanu aktywnego [6, 7]. W związku z powyższym pierwotniaki zdolne są szybko reagować zmianą liczebności na zmiany parametrów środowiska ich życia.



Rys. 1. Zmiana średniej liczby organizmów w trakcie eksperymentu na tle zmian stężenia związków azotu (komora napowietrzana)

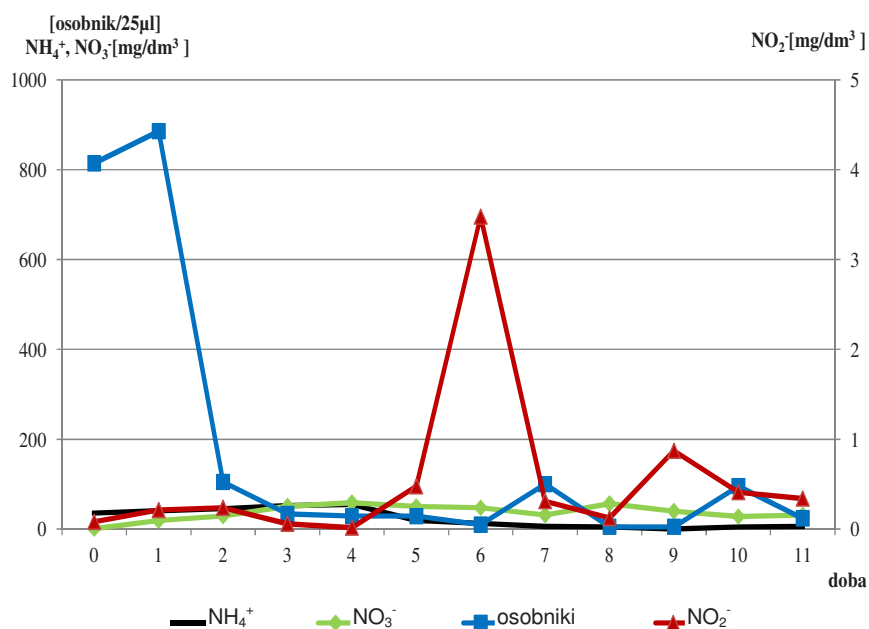
Fig. 1. Changes in average number of organisms during the experiment comparing to changes in concentration of nitrogen compounds (tank with mixing and air supply)

Na podstawie prowadzonego eksperymentu można stwierdzić, że zmiany stężenia poszczególnych związków azotu, które są odzwierciedleniem działalności bakterii w różnych warunkach procesowych, odbywają się niezależnie od zmian w ilości pierwotniaków. Wnioskując na podstawie badań ilościowych organizmów w natlenianej komorze SBR, udało się stwierdzić, iż pierwotniaki w warunkach wysokich stężeń tlenu pomimo braku dostarczanych nowych porcji substancji pokarmowych w ciągu 48 godzin znacznie zwiększają swoją liczebność (rys. 1). Natomiast w kolejnych dobach spstrzegano ciągle zmniejszanie ich liczby. Około 4 doby liczba pierwotniaków powracała do poziomu z początku eksperymentów (dla wszystkich serii).

W warunkach komory napowietrzania liczba fizjologicznie aktywnych osobników pierwotniaków pozostawała w układzie na wysokim poziomie do około 6 doby, po czym stabilizowała się i pozostawała na niskim poziomie aż do 9 doby. Stabilna pozostawała w tym czasie zarówno liczba występujących gatunków, jak i liczba osobników w ich obrębie. Ostateczny zanik fizjologicznie aktywnych komórek pierwotniaków rozpoczął się około dziewiątej i dziesiątej doby.

W tym samym czasie co eksperyment w komorze napowietrzanej prowadzono również analogiczne badania w komorze mieszanej (początkowy zespół organizmów we wszystkich komorach był taki sam). Jednakże ze względu na parametry procesowe zmiany w zespołach organizmów w każdej z analizowanych komór przebiegały w inny sposób, co potwierdza możliwość wykorzystania analizowanych grup pierwotniaków jako organizmów wskaźnikowych [8-17].

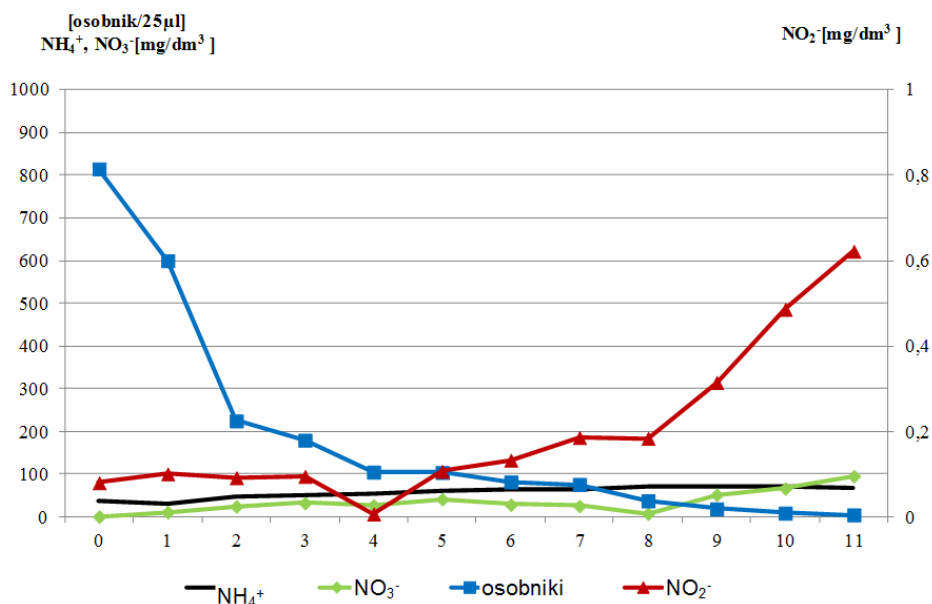
Zmiany następujące w komorze mieszanej wskazują na inną reakcję zespołu organizmów w porównaniu do komory napowietrzanej. Analogiczna tendencja wzrostu liczby pierwotniaków jak w komorze napowietrzanej utrzymywała się tylko w ciągu pierwszej doby, jednakże z mniejszą intensywnością (rys. 2). W ciągu następnej doby w warunkach komory mieszania nastąpił gwałtowny spadek liczby aktywnych osobników pierwotniaków, osiągając minimum w piątej lub szóstej dobie eksperymentów.



Rys. 2. Zmiana średniej liczby organizmów w trakcie eksperymentu na tle zmian stężenia związków azotu (komora mieszana bez napowietrzania)

Fig. 2. Changes in average number of organisms during the experiment comparing changes in concentration of nitrogen compounds (tank with mixing but without of air supply)

W tym samym czasie w komorze bez mieszania i napowietrzania (komorze kontrolnej), gdzie osad czynny pozostawał w postaci zsedymetowanych kłaczków, nie następowała faza wzrostu liczebności pierwotniaków, zaś w ciągu dwu dni ilość osobników w obrębie analizowanych gatunków malała czterokrotnie. W kolejnych dobach eksperymentu następowało powolne zmniejszanie zarówno liczby osobników, jak i gatunków (rys. 3). Ostateczny zanik aktywnych komórek pierwotniaków w komorze kontrolnej następował, podobnie jak w komorze napowietrzania, na przełomie dziewiątej i dziesiątej doby.



Rys. 3. Zmiana średniej liczby organizmów w trakcie eksperymentu na tle zmian stężenia związków azotu (komora kontrolna bez mieszania i napowietrzania)

Fig. 3. Changes in average number of organisms during the experiment comparing changes in concentration of nitrogen compounds (control tank without mixing and without air supply)

Podczas badań analizowano wiele grup organizmów, jednakże tylko orzęski i ameby nagie w trakcie trwania eksperymentu wykazywały korelacje z mierzonymi parametrami procesowymi. Na podstawie obliczeń wykonanych w programie STATISTICA stwierdzono, iż dla zależności pomiędzy liczebnością orzęsków a stężeniem tlenu rozpuszczonego wskaźnik korelacji  $r$  wynosi 0,853 przy  $r^2$  równym 0,728 oraz  $p$  równym 0,0146. Dla tej samej grupy organizmów związek pomiędzy ich liczebnością a pH charakteryzowany jest przez wartość  $r = 0,877$  przy  $r^2 = 0,769$  oraz  $p = 0,0096$ , zaś pomiędzy liczebnością a OWO  $r = 0,758$  przy  $r^2 = 0,574$  oraz  $p = 0,0484$ . Biorąc pod uwagę stężenia związków azotu, występowała wysoka korelacja tylko pomiędzy liczebnością orzęsków a stężeniem  $\text{NO}_2^-$  przy wartości  $r = 0,699$ ,  $r^2 = 0,489$  oraz  $p = 0,0801$ .

Dla ameb nagich związek pomiędzy ich liczebnością a stężeniem tlenu rozpuszczonego określa wskaźnik korelacji  $r$  na poziomie  $-0,990$  przy  $r^2$  równym 0,981 oraz  $p$  równym 0,00002. Dla tej samej grupy ameb związek pomiędzy ich liczebnością a pH charakteryzowany jest przez wartości  $r = -0,927$  przy  $r^2 = 0,860$  oraz  $p = 0,0026$ , zaś pomiędzy liczebnością a OWO  $r = 0,843$  przy  $r^2 = 0,711$  oraz  $p = 0,0172$ . Analizując stężenia związków azotu, można stwierdzić, iż występowała zauważalna korelacja tylko pomiędzy liczebnością ameb nagich a stężeniem  $\text{NO}_2^-$  przy wartości  $r = 0,762$ , przy  $r^2 = 0,581$  oraz  $p = 0,0463$ .

## Podsumowanie

Na podstawie wyników uzyskanych podczas trzech serii eksperymentów, wykonanych w trzech powtórzeniach, prowadzonych dla różnych warunków procesowych, można stwierdzić, iż przy braku napływu substancji pokarmowych i w razie awarii systemu napowietrzania większość osobników pierwotniaków w osadzie czynnym incystuje się lub wymiera w ciągu drugiej doby. W tym samym czasie, przy działającym napowietrzaniu, w ciągu pierwszych dwu dób następuje znaczne zwiększenie liczebności pierwotniaków. Po takim wzroście zachodzącym w warunkach dostępności tlenu obserwowany jest z kolei spadek liczebności do poziomu startowego w ciągu kolejnych dwu dób. Jak można wnioskować na podstawie badań organizmów osadu czynnego pobieranych w komorze bez mieszania i napowietrzania brak zasilania składnikami odżywczymi skutkuje znacznym zmniejszeniem liczebności pierwotniaków już po dwu dobach. W trakcie eksperymentu struktura gatunkowa zespołu pierwotniaków pozostawała stabilna przez cztery doby.

## Podziękowania

Środki finansowe, które pozwoliły na wykonanie badań pochodziły z Grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 4949/B/T02/2008/34.

## Literatura

- [1] Zhukova V, Sabliy L, Łągód G. Biotechnology of the food industry wastewater treatment from nitrogen compounds. *Proc ECOpole*. 2011;5(1):133-138.
- [2] Głębiński T, Jaromin KM, Kopertowska A, Łągód G. Bioreaktor laboratoryjny typu SBR do badania właściwości osadu czynnego i procesów oczyszczania ścieków. *TH!NK*. 2011;2(6):120-128.
- [3] Jaromin K, Łągód G. Laboratory Sequencing Bath Reactor for purification of wastewater with activated sludge. *Visnyk RDTU Vypusk, Rivne*. 2011;6:301-303.
- [4] Fiałkowska E, Fyda J, Pajdak-Stós A, Wiąckowski K. *Osad czynny: biologia i analiza mikroskopowa*. Kraków: Oficyna Wydawnicza „Impuls”; 2005.
- [5] Klimowicz H. *Znaczenie mikrofauny przy oczyszczaniu ścieków osadem czynnym*. Warszawa: IKS; 1983.
- [6] Zaika VE. *Sravnitel'naja produktivnost' hydrobiontov*. Kiev: Naukova dumka; 1983. [Ros.].
- [7] Fenchel T. *Ecology of Protozoa*. Madison (Wisconsin): Springer-Verlag Science Tech Publishers; 1987.
- [8] Madoni P. A sludge biotic index (SBI) for evaluation of biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Res*. 1994;28(1):67-75. DOI: 10.1016/0043-1354(94)90120-1.
- [9] Salvadó H. *Protozoos y metazoos indicadores de los parámetros operacionales W: Microbiología de los fangos activados, Formació Continuada, Les Heures, Universitat de Barcelona*, 2000.
- [10] Curds CR, Cockburn A. Protozoa in biological sewage treatment processes. II. Protozoa as indicators in the activated sludge process. *Water Res*. 1970;4(3):237-249. DOI: 10.1016/0043-1354(70)90070-9.
- [11] AlShahwani SM, Horan NJ. The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants. *Water Res*. 1991;25(6):633-638. DOI: 10.1016/0043-1354(91)90038-R.
- [12] Martín-Cereceda M, Serrano S, Guinea A. A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. *FEMS Microbiol Ecol*. 1996;21:267-276.
- [13] Madoni P, Ghetti PF. The structure of Ciliated Protozoa communities in biological sewage-treatment plants. *Hydrobiologia*. 1981;83(2):207-215. DOI: 10.1007/BF00008268.
- [14] Esteban G, Téllez C, Bautista LM. Dynamics of ciliated protozoa communities in activated-sludge process. *Water Res*. 1991;25(8):967-972. DOI: 10.1016/0043-1354(91)90145-G.
- [15] Jaromin K, Babko R, Łągód G. Liczebność pierwotniaków w poszczególnych urządzeniach oczyszczalni ścieków „Hajdów” na tle zmian stężeń azotu. *Proc ECOpole*. 2010;4(2):403-408.
- [16] Chomczynska M, Montusiewicz A, Malicki J, Łągód G. Application of saprobes for bioindication of wastewater quality. *Environ Eng Sci*. 2009;26(2):289-295. DOI: 10.1089/ees.2007.0311.

- [17] Łągód G, Chomczynska M, Montusiewicz A, Malicki J, Bieganowski A. Proposal of measurement and visualization methods for dominance structures in the saprobe communities. *Ecol Chem Eng S.* 2009;16(3):369-377.

## CHANGES IN STRUCTURE OF ACTIVATED SLUDGE PROTOZOA COMMUNITY AT THE LOW LEVEL OF OXYGEN CONCENTRATION

<sup>1</sup> Faculty of Environmental Engineering, Lublin University of Technology

<sup>2</sup> Schmalhausen Institute of Zoology NAS of Ukraine

<sup>3</sup> Sumy State University, Ukraine

**Abstract:** The several experiments in laboratory environment using SBR bioreactor modeling the conditions expected by certain bioreactor elements malfunction were performed. In the course of experiments the concentrations of ammonia nitrogen, nitrates(III), nitrates(V), TOC and TC were systematically measured. Besides physico-chemical parameters, the structure of activated sludge microorganisms was analyzed. In taken samples the number of protozoa groups (ciliates, flagellates, testate and naked amoebas) and total number of specimens in selected morphological-functional groups was calculated. Each one of the three measuring series, conducted for various types of process conditions, was repeated three times, activated sludge was sampled at Hajdów WWTP in Lublin. The obtained final results are the average of three repetitions of every experiments series. On this ground, we may conclude, that the number of ciliates and naked amoebas shows high correlation to O<sub>2</sub> concentration, pH and TOC, however different species and morphological-functional groups of organisms present different reaction to these factors.

**Keywords:** SBR bioreactor, bioindicators, protozoa, sewage purification, oxygen concentration, pollution indicators