

Agnieszka WOLNA-MARUWKA¹, Monika JAKUBUS² i Joanna JORDANOWSKA³

ROLA PREPARATU ECO TABS™ W STABILIZACJI OSADÓW ŚCIEKOWYCH CZ. II: OCENA WŁAŚCIWOŚCI MIKROBIOLOGICZNYCH OSADÓW

ECO TABS™ PREPARATION ACTION IN STABILIZATION OF SEWAGE SLUDGE

PART II: ASSESSMENT OF MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF SLUDGE

Abstrakt: Powstające w procesach oczyszczania ścieków osady poddawane są najczęściej stabilizacji w otwartych komorach fermentacyjnych w celu zmniejszenia ich podatności do zagniwania oraz zmniejszenia ilości organizmów chorobotwórczych. Zawartość składników organicznych w osadach ściekowych (ok. 80% s.m. w osadzie surowym) jest czynnikiem determinującym stosowanie biopreparatów w celu przyspieszenia procesu biodegradacji masy organicznej. Biopreparaty tworzy się na bazie odpowiednio dobranych szczepów rodzimych lub allochtonicznych drobnoustrojów. Poddaje się je starannej selekcji, a następnie wprowadza do danych warunków środowiskowych. Z uwagi na aspekty praktyczne biopreparaty komercyjne wykazują szereg zalet, przede wszystkim są łatwe w pozyskaniu, magazynowaniu, jak również w dozowaniu. W skład biopreparatów, których zadaniem jest optymalizacja rozkładu materii organicznej, należą bakterie rodzaju *Pseudomonas* oraz *Bacillus*. Ich cechą charakterystyczną jest niezwykle bogactwo nietypowych szlaków metabolicznych, wysokie zdolności adaptacyjne do różnych warunków środowiskowych, wytwarzanie endospor w przypadku *Bacillus* sp., degradacja złożonych i często toksycznych substancji, w tym również fakultatywne przełączanie aparatu metabolicznego na warunki beztlenowe (w przypadku *Pseudomonas* sp.). Celem przeprowadzonych badań było monitorowanie zmian liczebności heterotroficznych bakterii właściwych i grzybów pleśniowych, jak również poziomu aktywności dehydrogenaz w osadzie ściekowym po zastosowaniu biopreparatów ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK. Obiektem badań były dwie frakcje osadu ściekowego pobieranego z otwartej komory fermentacyjnej, znajdujące się na terenie mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków komunalnych we Wrześni. Do komory fermentacyjnej w okresie od 27 kwietnia do 25 czerwca 2014 roku (codziennie) aplikowano 15 sztuk ECO TABS™ POND TABLETS i 15 sztuk ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK firmy ECO TABS™ Europe. Już na początku eksperymentu zaobserwowano rozdział całej mieszaniny na 2 frakcje: cięższą opadającą na dół zbiornika i lżejszą unoszącą się w jego górnej części. W związku z tym do analiz mikrobiologicznych i biochemicznych pobierano próbki z obu frakcji jednocześnie, co 12-14 dni w kolejnych, sześciu terminach i po 25 dniach w ostatnim terminie badań (termin I - 27 kwietnia 2014, II - 5 maja, III - 22 maja, IV - 4 czerwca, V - 16 czerwca, VI - 30 czerwca, VII - 25 lipca 2014). Analizy mikrobiologiczne przeprowadzono z zastosowaniem metody płytkowej Kocha i polegały na oznaczeniu ogólnej liczebności bakterii heterotroficznych i grzybów pleśniowych. Osad ściekowy poddano również analizie biochemicznej, która polegała na określeniu metodą spektrofotometryczną poziomu aktywności dehydrogenaz. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że zaaplikowanie biopreparatów ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK przyczyniło się do istotnie statystycznego wzrostu ogólnej liczby heterotroficznych bakterii właściwych, grzybów pleśniowych, jak również poziomu aktywności dehydrogenaz w osadzie, pochodzącym zarówno z dolnej, jak i górnej części komory fermentacyjnej. Najsilniejsze namnażanie się mikroorganizmów oraz najwyższą ich aktywność odnotowano w ostatnich, trzech terminach analiz. Ponadto wykazano, że wyższą liczebnością oraz aktywnością analizowanych drobnoustrojów charakteryzowała się dolna frakcja osadu ściekowego.

Słowa kluczowe: biopreparat, mikroorganizmy, osad ściekowy, stabilizacja

¹ Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań, email: amaruwka@up.poznan.pl

² Katedra Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

³ Przedsiębiorstwo Wodociągów i Kanalizacji we Wrześni Sp. z o.o., ul. Miłostawska 8, 62-300 Września

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'15, Jarnołtówek, 14-16.10.2015

Wstęp

Osady ściekowe ze względu na skład fizykochemiczny, a szczególnie dużą zawartość substancji organicznej zasiedlone są przez zróżnicowaną mikroflorę tworzącą swoistą biocenozę. W jej skład wchodzi zarówno wirusy, jak i bakterie, grzyby pleśniowe i ich formy przetrwalne, a ponadto jaja helmintów [1]. Wśród drobnoustrojów izolowanych z osadów ściekowych występują zarówno mikroorganizmy patogenne dla człowieka, jak i saprofityczne. Ich podstawową rolę w stabilizowanym osadzie ściekowym jest mineralizacja materii organicznej [2-4].

Z osadów ściekowych najczęściej izoluje się gram-ujemne bakterie: *Proteus*, *Shigella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Aeromonas hydrophila*, jak również *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Brocadia*, *Kuenenia*, *Lophomonas*, *Nitrosomonas*, *Azotobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* i *Micrococcus* [5, 6]. Grzyby pleśniowe obok bakterii są jednymi z ważniejszych przedstawicieli mikroflory biorącej udział w mineralizacji materii organicznej [7]. Są organizmami szeroko rozpowszechnionymi w świecie, rozwijają się wszędzie tam, gdzie w podłożu znajdują dostateczną ilość substancji odżywczych. Z przeglądu literatury wynika, że najczęściej z osadów ściekowych izolowane są gatunki: *Fusarium*, *Arthroderma*, *Penicilium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Phialophora richardsiae*, *Geotrichum candidum*, *Epidermophyton*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichospor*, jak również dermatofity: *Trichophyton* czy *Candida* [8-10].

Podstawowym procesem w gospodarce osadami ściekowymi jest proces stabilizacji, który zapobiega procesowi gnicia, wydzielania odorów, czy też przyczynia się do zmniejszenia lub całkowitej eliminacji mikroorganizmów patogennych. Obecnie w polskich oczyszczalniach ścieków dominują konwencjonalne systemy stabilizacji osadów ściekowych, takie jak fermentacja beztlenowa, oparta na fermentacji metanowej [11].

Fermentacja metanowa jest to złożony proces przebiegający przy udziale zróżnicowanych populacji drobnoustrojów pod względem pokarmowym, ale synergistycznie zależnych od siebie [12].

Biologicznym wskaźnikiem aktywności drobnoustrojów w danym środowisku są zdaniem Brzezińskiej i Włodarczyk [13] dehydrogenazy. Substratami biorącymi udział w reakcjach katalizowanych przez wyżej wymieniony enzymy są proste węglowodany, zaś poziom aktywności enzymów świadczy o obecności fizjologicznie żywych mikroorganizmów. W warunkach tlenowych są one przenoszone przez szereg pośredników na elementy łańcucha oddechowego, a ostatecznie na tlen, natomiast w warunkach beztlenowych funkcję akceptora pełnią utlenione formy nieorganiczne, takie jak NO_3^- , Mn(IV) [14].

Dehydrogenazy według wyżej wymienionych autorów wykazują aktywność tylko w żywych komórkach. Ponadto cechą charakterystyczną niniejszych enzymów jest zdolność do korelacji z zawartością materii organicznej podłoża.

Z badań Dąbek-Szreniawskiej i in. [15] oraz Mocek-Płóćniak [16] wynika, że poziom aktywności enzymatycznej mikroorganizmów uzależniony jest nie tylko od zawartości substratu, ale również od ilości zakumulowanych metali ciężkich i jonów wodorowych (pH) w środowisku.

Obecnie w celu zoptymalizowania tempa biodegradacji substancji organicznej w stabilizowanych osadach ściekowych, jak również usuwania ksenobiotyków

podejmowane są próby wykorzystania preparatów przygotowanych na bazie wyselekcjonowanych mikroorganizmów oraz ich form przetrwanych [17]. Przykładem mogą być produkty ECO TABS™, sporządzane na bazie bakterii z rodzaju *Bacillus* oraz *Pseudomonas*, które zdaniem producenta poprzez produkcję licznych enzymów przyczyniają się do intensyfikacji rozkładu związków powierzchniowo czynnych, węglowodorów oraz innych chemikaliów.

Celem przeprowadzonych badań było monitorowanie zmian liczebności heterotroficznych bakterii właściwych i grzybów pleśniowych, jak również poziomu aktywności dehydrogenaz w osadzie ściekowych, po zastosowaniu biopreparatów ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK.

Materiał i metody

Obiekt badań

Obiektem badań był osad pobierany z otwartej komory fermentacyjnej (OKF) o pojemności 3100 m³, znajdującej się na terenie mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków komunalnych we Wrześni (52,320°N i 17,579°E). Szczegółowy opis obiektu badań przedstawiono w I części pracy zatytułowanej „Wpływ preparatu ECO TABS™ na właściwości chemiczne osadów ściekowych” [18].

Do komory codziennie aplikowano 15 sztuk ECO TABS™ POND TABLETS i 15 sztuk ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK firmy ECO TABS™ Europe. Doświadczenie trwało od 27 kwietnia do 25 czerwca 2014 roku. Już na początku eksperymentu zaobserwowano rozdział całej mieszaniny na 2 frakcje: cięższą opadającą na dół zbiornika i lżejszą unoszącą się w jego górnej części. W związku z tym do analiz mikrobiologicznych i biochemicznych pobierano próbki z obu frakcji jednocześnie, co 12-14 dni w kolejnych sześciu terminach i po 25 dniach w ostatnim terminie badań (termin I - 27 kwietnia 2014 r., II - 5 maja, III - 22 maja, IV - 4 czerwca, V - 16 czerwca, VI - 30 czerwca, VII - 25 lipca 2014 r.). Pobranie próbek odbywało się za pomocą czerpaka o pojemności 1000 cm³ na wysięgniku teleskopowym. Próbkę były pobierane zgodnie z normą PN-EN ISO 5667-13:2004 [19] z głębokości 1 m pod powierzchnią osadu (G) oraz z dna komory (D).

Jednocześnie przed rozpoczęciem dodawania preparatów ECO TABS (27 kwietnia 2014 r.) kontrolnie z komory fermentacyjnej pobrano próbki osadów ściekowych niezbędne do przeprowadzenia analiz mikrobiologicznych.

Charakterystyka produktów

ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK to wielofunkcyjne preparaty w postaci tabletek oraz proszku, zawierające inokulum wyspecjalizowanych szczepów bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i *Bacillus* w ilości ponad 5 miliardów szczepów na gram produktu, a także mieszaninę nadwęglanu sodu, węglanu disodu, związku z nadtlakiem wodoru (2:3), monohydrat laktozy i środek powierzchniowo czynny.

Szczegółowy opis biopreparatów przedstawiono w I części pracy zatytułowanej „Wpływ preparatu ECO TABS™ na właściwości chemiczne osadów ściekowych” [18].

Analizy mikrobiologiczne i biochemiczne

Analizy enzymatyczne zastosowane w doświadczeniu polegały na oznaczeniu w pobranych próbkach osadu aktywności dehydrogenaz metodą spektrofotometryczną. Poziom aktywności dehydrogenaz oznaczano, używając jako substratu 1% TTC (chlorek trójfenylotetrazolu), po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 30°C, przy długości fal 485 nm. Aktywność enzymu wyrażano w $\mu\text{mol TPF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s.m. osadu}\cdot\text{5 h}^{-1}$ [20].

Analizy mikrobiologiczne w kolejnych terminach trwania doświadczenia przeprowadzone zostały w oparciu o metodę płytkową Kocha i polegały na oznaczeniu, przy użyciu podłoża wybiórczych liczebności jednostek tworzących kolonie (jtk), heterotroficznych bakterii właściwych i grzybów pleśniowych. Liczbę bakterii heterotroficznych oznaczono na podłożu agar standard firmy Merck po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 35°C [21]. Grzyby pleśniowe hodowano na podłożu Martina [22] w temperaturze 28°C przez 5 dni. Warunki beztlenowe uzyskiwano za pomocą systemu Anaerocult® (firma Merck).

Statystyczne opracowanie uzyskanych wyników badań

Doświadczenie prowadzono w układzie dwuczynnikowym, natomiast wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji, a istotność różnic średnich oceniono testem Tukeya (program STATISTICA 11.0).

Wyniki i dyskusja

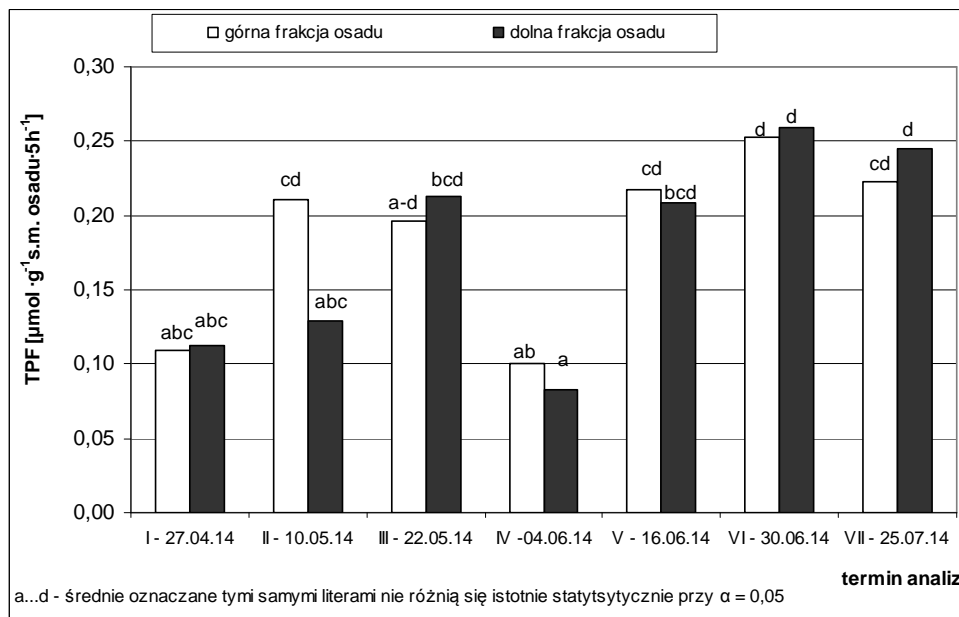
Wyniki przedstawionych badań mają charakter pionierski, co potwierdza wnikliwa analiza krajowych i zagranicznych pozycji literaturowych, dotyczących zastosowania biopreparatów w stabilizacji osadów ściekowych. Brak jest bowiem jakichkolwiek doniesień naukowych informujących o wpływie preparatu ECO TABS™ na stan mikrobiologiczny i enzymatyczny stabilizowanych osadów ściekowych.

Analiza poziomu dehydrogenaz w danym środowisku pozwala zdaniem Mocek-Płóćniak [16] na sformułowanie wniosków odnośnie do zawartości substancji organicznej podłoża oraz aktywności metabolicznej mikroorganizmów, dlatego niezwykle istotne wydaje się monitorowanie poziomu ich aktywności w stabilizowanych osadach ściekowych.

Analizując wyniki badań enzymatycznych (rys. 1), wykazano, że poziom aktywności dehydrogenaz w trakcie trwania doświadczenia stopniowo wzrastał (z wyjątkiem terminu IV - 4 czerwca 2014 r.), osiągając wartości maksymalne w VI terminie badań (30 czerwca 2014 r.).

Wahania aktywności omawianych enzymów w doświadczeniu związane były najprawdopodobniej z wartościami temperatury otoczenia. Według Bielińskiej i in. [23], temperatura obok wartości pH i wilgotności podłoża jest jednym z czynników istotnie oddziałujących na poziom aktywności enzymatycznej.

Z badań Kopera i Piotrowskiej [24] wynika, że poziom aktywności enzymatycznej gleby zależał w dużym stopniu od pory roku. Według wyżej wymienionych autorów enzymy są stosunkowo aktywne wiosną i latem, zaś jesienią następuje zmniejszenie ich aktywności.



Rys. 1. Zmiany aktywności dehydrogenaz w osadzie ściekowym

Fig. 1. The changes of dehydrogenases activity in sewage sludge

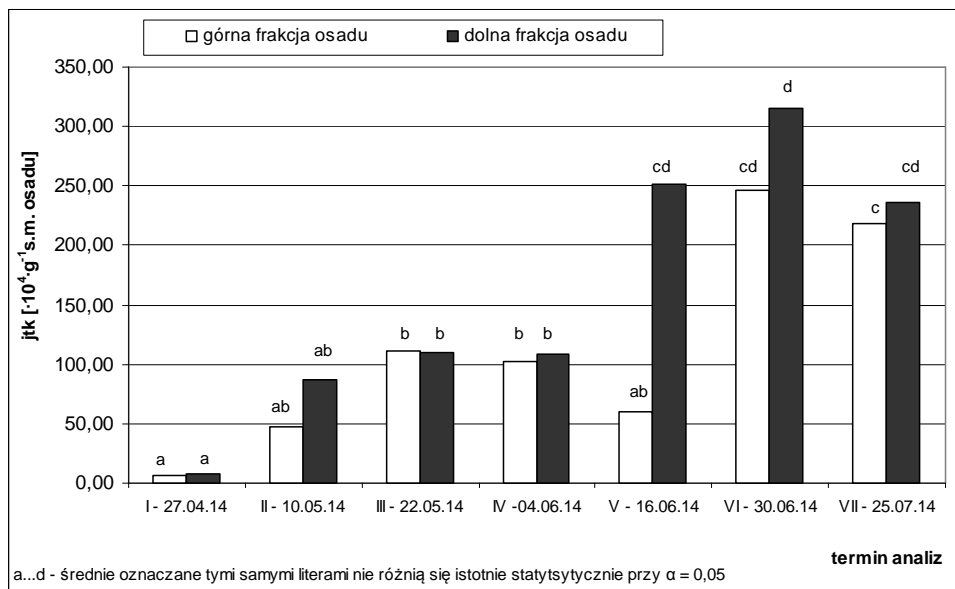
Innym czynnikiem wpływającym na różnice w poziomie aktywności dehydrogenaz w analizowanych frakcjach osadu ściekowego w trakcie trwania doświadczenia mogły być zmiany w dostępności węgla organicznego lub też pojawienie się wtórnych metabolitów, inhibujących aktywność badanych enzymów. Z badań Bielińskiej i in. [25] wynika, że dehydrogenazy charakteryzuje duża wrażliwość na niektóre stężenia metali ciężkich, PCB czy PAH.

Zdaniem Nannipieri i in. [26], drobnoustroje poprzez produkcję pozakomórkowych polisacharydów i innych metabolitów komórkowych zmieniają właściwości podłoża, a tym samym wpływają na kształtowanie się populacji innych mikroorganizmów.

Obserwując zmiany liczebności heterotroficznych bakterii właściwych (rys. 2) oraz grzybów pleśniowych (rys. 3) w analizowanych frakcjach osadu, analogicznie jak w przypadku dehydrogenaz w IV terminie badań, zaobserwowano zmniejszenie ich namnażania się.

Dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała ponadto, iż rodzaj frakcji osadu ściekowego w zastosowanych terminach badań nie miał istotnie statystycznie ($\alpha = 0,05$) wpływu na poziom aktywności dehydrogenaz. Ponadto zaobserwowano, że zastosowane preparaty ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK przyczyniły się do istotnie statystycznego wzrostu aktywności dehydrogenaz jedynie w dolnej frakcji osadu ściekowego w dwóch ostatnich terminach analiz (VI i VII).

Najliczniejszą grupą drobnoustrojów w analizowanym osadzie były bakterie właściwe (*Eubacteriae*), ich liczebność w trakcie trwania doświadczenia utrzymywała się na poziomie 10^4 jtk na gram suchej masy osadu (rys. 2).



Rys. 2. Zmiany ogólnej liczby heterotroficznych bakterii w osadzie ściekowym

Fig. 2. The changes of the total number of heterotrophic bacteria in sewage sludge

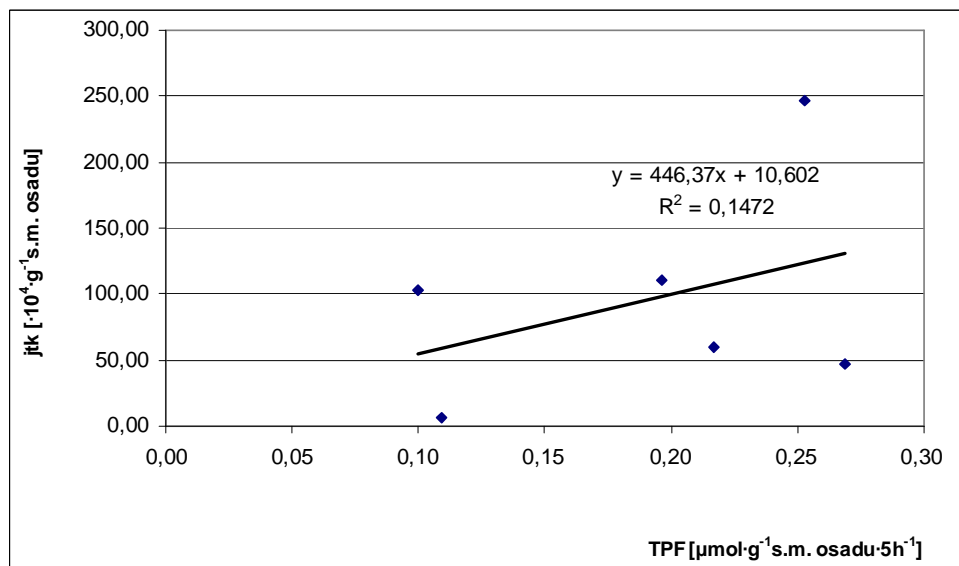
Dzięki bakteriom możliwe jest usuwanie ze ścieków substancji biogenych [27], w tym różnego rodzaju związków organicznych [28]. Zdaniem Błaszczyka i Krzyśko-Łupickiej [10], im bardziej zróżnicowany jest skład mikroorganizmów w osadzie, tym bardziej efektywny jest rozkład rozmaitych związków. Natomiast skład i liczebność drobnoustrojów w osadach związane są nierozdzielnie z ilością i dostępnością materii organicznej, tlenu i obciążeniem osadu.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że zastosowanie preparatów ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK spowodowało wzrost ogólnej liczby bakterii w obu frakcjach osadu - górnej i dolnej w kolejnych terminach badań (rys. 2).

W I terminie analiz (27 kwietnia 2014 r.) zaobserwowano większą liczebność heterotroficznych bakterii właściwych w dolnej frakcji osadu niż w górnej. Silniejsze namnażanie się bakterii w wyżej wymienionej części komory obserwowane było we wszystkich okresach, w których dokonywano analiz, z wyjątkiem terminu III (22 maja 2014 r.).

Istotne statystycznie różnice ($\alpha = 0,05$) w liczebności omawianych mikroorganizmów w osadzie, w zależności od miejsca jego pobrania, odnotowano jedynie w V terminie analiz (16 czerwca 2014 r.). W pozostałych okresach poboru próbek różnice w liczebności

bakterii były zauważalne, lecz nieistotne statystycznie. Można jedynie domniemywać, że silniejsze namnażanie się omawianych mikroorganizmów w dolnej części komory wynikało z większej zawartości materii organicznej, która ze względu na ciężar cząsteczek opadała na dno komory.



Rys. 3. Zależność pomiędzy aktywnością dehydrogenaz a liczebnością bakterii w górnej części komory fermentacyjnej

Fig. 3. Correlation between the dehydrogenases activity and the bacteria number in the upper parts of the fermentation chamber

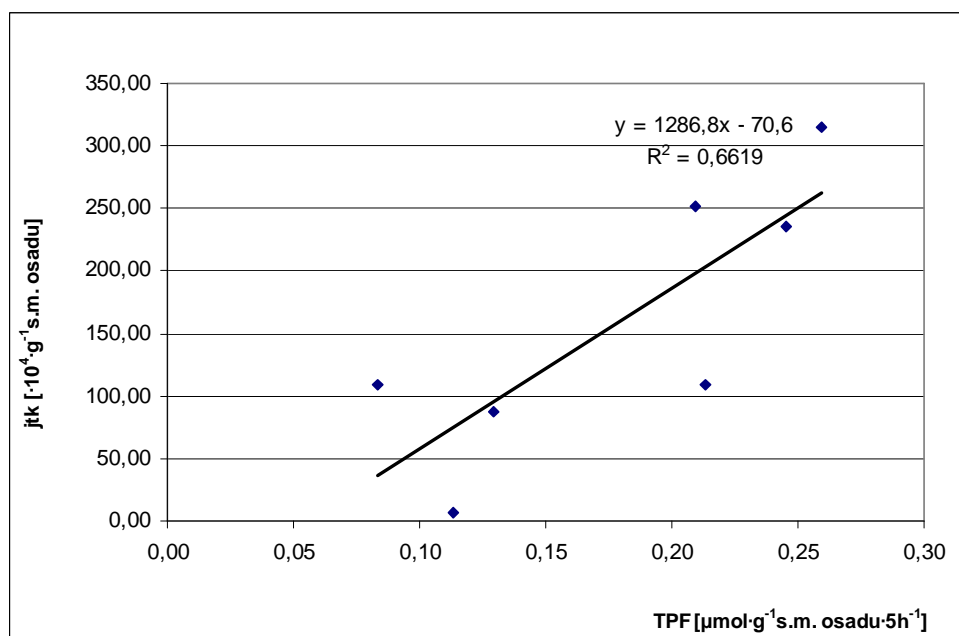
Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała ponadto, że głównym czynnikiem determinującym liczebności bakterii właściwych w osadzie był termin poboru próbek. Analogicznie jak w przypadku aktywności dehydrogenaz, najwyższą liczebność omawianych mikroorganizmów odnotowano 30 czerwca 2014 roku (termin VI).

Przeprowadzone badania wykazały ponadto stopniowe zwiększanie się liczebności bakterii właściwych w trakcie trwania eksperymentu, korelujące dodatnio z poziomem aktywności dehydrogenaz w osadzie, jednakże jedynie w dolnej części komory (rys. 3 i 4). Z badań Kuziemskiej [29] wynika, że aktywność wyżej wymienionych enzymów w danym środowisku związana jest z metabolizmem oddechowym drobnoustrojów, przede wszystkim bakterii i promieniowców.

Weryfikacja pozycji literaturowych dotyczących analiz mikrobiologicznych prowadzonych w trakcie stabilizacji osadów ściekowych w warunkach beztlenowych wykazała brak kompleksowych badań mykologicznych prowadzonych w wyżej wymienionych warunkach.

Grzyby pleśniowe są grupą mikroorganizmów odgrywającą istotną rolę w stabilizacji osadów ściekowych. Ich rozbudowany aparat enzymatyczny (amylazy, lipazy, celulazy,

proteazy, ksylanazy, pektynazy, fosfatazy) sprawia, że potrafią przekształcać związki organiczne nawet w trudnych warunkach (suche, kwaśne i mało żyzne podłoże), umożliwiając w ten sposób bakteriom przeprowadzanie kolejnych etapów mineralizacji materii organicznej [30-32]. Należy pamiętać, że w przeważającej mierze grzyby pleśniowe są organizmami tlenowymi, stąd też niewielka ich liczebność w analizowanych frakcjach osadu ściekowego (rys. 5). Powyższe obserwacje potwierdzają badania Worwąg i in. [33]. Z badań Lombard i Dowell [34] wynika, że w warunkach beztlenowych rozwijają się pleśnie z rodzaju *Mucor*, *Rhizopus*, *Amylomyces*.



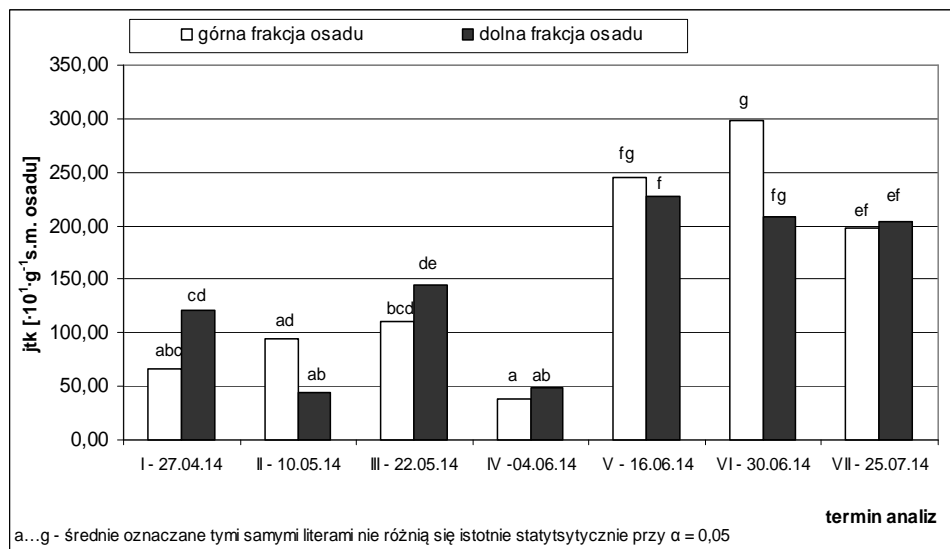
Rys. 4. Zależność pomiędzy aktywnością dehydrogenaz a liczebnością bakterii w dolnej części komory fermentacyjnej

Fig. 4. Correlation between the dehydrogenases activity and the bacteria number in the lower parts of the fermentation chamber

Podobnie jak w przypadku ogólnej liczby heterotroficznych bakterii właściwych kształtowały się zmiany liczebności grzybów pleśniowych w trakcie trwania doświadczenia (rys. 5).

Najsilniejsze namnażanie się omawianych mikroorganizmów zaobserwowano również w trzech ostatnich terminach analiz. Do wzrostu poziomu liczebności grzybów pleśniowych w danym środowisku zdaniem Jezierskiej-Tys i Frąc [35] mogą przyczynić się korzystne zmiany w środowisku ich bytowania, tj. podwyższenie wartości pH, zmiana wartości temperatury i wilgotności oraz poprawa warunków powietrzno wodnych.

Przeprowadzona dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała istotny statystycznie ($\alpha = 0,05$) wpływ zarówno terminu analiz, jak i miejsca poboru próbek osadu (dolna lub górna frakcja osadu ściekowego) na namnażanie się grzybów.



Rys. 5. Zmiany ogólnej liczby grzybów pleśniowych w osadzie ściekowym

Fig. 5. The changes of the total number of moulds in sewage sludge

Nie zaobserwowano jednak w analizowanych terminach, analogicznie jak w przypadku ogólnej liczby bakterii, tendencji do silniejszego namnażania się omawianych mikroorganizmów w osadzie pochodzącym z dolnej części komory.

Ponadto wykazano, że zastosowane preparaty ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK przyczyniły się do istotnie statystycznego wzrostu liczebności grzybów pleśniowych w obu frakcjach osadu.

Wnioski

1. Zaaplikowanie preparatów ECO TABS™ POND TABLETS oraz ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK przyczyniło się do istotnie statystycznego wzrostu ogólnej liczby heterotroficznych bakterii właściwych, grzybów pleśniowych, jak również poziomu aktywności dehydrogenaz w osadzie pochodzącym zarówno z dolnej, jak i górnej części komory fermentacyjnej.
2. Najsilniejsze namnażanie się mikroorganizmów oraz najwyższą ich aktywność odnotowano w ostatnich trzech terminach analiz (16 czerwca - 25 lipca 2014 r.).
3. Wyższą liczebnością oraz aktywnością analizowanych drobnoustrojów charakteryzowała się dolna frakcja osadu ściekowego.

Literatura

- [1] Budzińska K, Jurek A, Szejniuk B, Wroński G. Skuteczność usuwania zanieczyszczeń bakteriologicznych w procesach oczyszczania ścieków z zastosowaniem stawów biologicznych. *Rocz Ochr Środ.* 2011;13(2):1519-1530. http://ros.edu.pl/images/roczniki/archive/pp_2011_096.pdf.
- [2] Estrada IB, Aller A, Aller F, Gomez X, Moran A. The survival of *Escherichia coli*, faecal coliforms and Enterobacteriaceae in general in soil treated with sludge from wastewater treatment plants. *Bioresource Technology.* 2004;93(2):181-189. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15051081>.
- [3] Piotrowska M, Wolna-Maruwka A. Stan sanitarny osadów ściekowych pochodzących z wybranych oczyszczalni ścieków województwa wielkopolskiego. *Nauka Przyroda Technologicz.* 2010;4(6):#92. http://www.npt.up-poznan.net/pub/art_4_92.pdf.
- [4] Sun YH, Luo YM, Wu LH, Li ZG, Song J, Christie P. Survival of faecal coliforms and risks in soils treated with municipal sewage sludges. *Environ Geochem Health.* 2006;628:97-101. DOI: 10.1007/s10653-005-90.
- [5] Lin H, Ong SL, Ng WJ, Khan E. Monitoring of bacterial morphology for controlling filamentous overgrowth in an ultracompact biofilm reactor. *Water Environ Res.* 2004;76(5):413-424. <http://www.ingentaconnect.com/content/wef/wer/2004/00000076/00000005/art00005>.
- [6] Ceprowski M, Krajewski JA. Czynniki szkodliwe dla zdrowia występujące w oczyszczalniach ścieków komunalnych. *Medycyna Pracy.* 2003;54(1):73-80. http://test.imp.lodz.pl/upload/kasia/czy_szkod_kom.pdf.
- [7] Wolna-Maruwka A, Piotrowska M, Niżewski P. Zmiany liczebności grzybów pleśniowych oraz aktywności proteolitycznej osadu ściekowego kompostowanego w warunkach kontrolowanych. *Nauka Przyroda Technologicz.* 2010;4(1):#6. http://www.npt.up-poznan.net/pub/art_4_6.pdf.
- [8] Ulfik K. Studies of keratinolytic and keratinophilic fungi in sewage sludge by means of a multi-temperature hair baiting method. *Polish J Environ Stud.* 2003;12(4):461-466. <http://www.pjoes.com/pdf/12.4/461-466.pdf>.
- [9] Tawfik MM, Rawa BH. Degradation of keratin substrates by fungi isolated from sewage sludge. *Mycopathologia.* 2002;154(4):85189. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12206319>.
- [10] Błaszczyk K, Krzyśko-Łupicka T. Różnorodność mikrobiologiczna osadów ściekowych. *Proc ECOpole.* 2013;7(2):451-466. DOI: 10.2429/proc.2013.7(2)059.
- [11] Borkowski S. Tlenowa stabilizacja termofilna osadów ściekowych. *Ochr Środ.* 2000;4(79):21-25. http://www.os.not.pl/docs/czasopismo/2000/Borowski_4-2000.pdf.
- [12] Worwąg M, Bień J, Zawieja I. Zespoły mikroorganizmów w procesach beztlenowej stabilizacji osadów. *Proc ECOpole.* 2010;4(2):515-522. http://tchie.uni.opole.pl/ecoproc10b/WorwagBien_PECO10_2.pdf.
- [13] Brzezińska M, Włodarczyk T. Enzymy wewnątrzkomórkowych przemian redoks (oksydoreduktazy). *Acta Agrophys. Rozprawy i monografie.* 2005;3:11-26. http://www.old.acta-agrophysica.org/artykuly/acta_agrophysica/ActaAgr_120_2005_0_3_11.pdf.
- [14] Kieliszewska-Rokicka B. Enzymy glebowe i ich znaczenie w badaniach aktywności mikrobiologicznej gleby. W: Dahm H, Pokojska-Burdziej A, redaktorzy. *Drobnoustroje środowiska glebowego, aspekty fizjologiczne, biochemiczne, genetyczne.* Toruń: Wyd Adam Marszałek; 2001:37-47.
- [15] Dąbek-Szreniawska M, Zimon A, Wyczółkowski AI. Aktywność enzymów w procesie amonifikacji w glebie z dodatkiem azotowych substancji organicznych. *Acta Agroph. Rozprawy i monografie.* 2006;8(1):23-33. http://www.old.acta-agrophysica.org/artykuly/acta_agrophysica/ActaAgr_139_2006_1_8_23.pdf.
- [16] Mocek-Plóćniak A. Wykorzystanie aktywności enzymatycznej do oceny wpływu antropogenicznych zmian wywołanych przez metale ciężkie w środowisku glebowym. *Nauka Przyroda Technologicz.* 2010;4(6):#86. http://www.npt.up-poznan.net/pub/art_4_86.pdf.
- [17] Wiechetek A, Turek-Szytow J, Choiński D, Georgi M, Miksch K. Wpływ substratu na zmiany aktywności lipolitycznej i parametry osadu czynnego. *Biotechnologia.* 2008;3(82):159-173. http://www.pfb.info.pl/files/kwartalnik/3_2008/12.%20wiechetek.pdf.
- [18] Jakubus M, Wolna-Maruwka A, Jordanowska J. Rola preparatu ECO TABS™ w stabilizacji osadów ściekowych Cz. I: Ocena składu chemicznego osadów. *Proc ECOpole.* 2015;9(2):615-625. DOI: 10.2429/proc.2015.9(2)072.
- [19] PN-EN ISO 5667-13:2004 Jakość wody-Pobieranie próbek-Część 13: Wytyczne dotyczące pobierania próbek osadów z oczyszczalni ścieków i stacji uzdatniania wody. <http://sklep.pkn.pl/pn-en-iso-5667-13-2011e.html>.
- [20] Thalmann A. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase Aktivität in Boden Mitteln Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.* 1968;21:249-258.

- [21] Merck-Polska. 101621 Standard count agar for microbiology. 2004;1.
- [22] Martin JP. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 1950;69:215-232. DOI: 10.1097/00010694-195003000-00006.
- [23] Bielińska EJ, Futa B, Mocek A. Wpływ zabiegów agrotechnicznych na funkcjonowanie krajobrazu rolniczego. *Inż Roln.* 2008;12:10(108):7-15. <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.baztech-article-BAR0-0042-0079>.
- [24] Koper J, Piotrowska A. Aktywność enzymatyczna gleby płowej w zależności od uprawy roślin w zmianowaniu i monokulturze. *Roczniki Glebozn.* 1996;33:89-100. http://ssa.ptg.sggw.pl/files/artykuly/1996_47/1996_tom_47_nr_3-4/tom_47_nr_3-4_89-100.pdf.
- [25] Bielińska EJ, Kołodziej B, Sugier D. Relationship between organic carbon content and the activity of selected enzymes in urban soils. *J Geochem Exploration.* 2013;129:52-56. <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-bef77512-7224-364a-b2b3-2d82992bf2fd>.
- [26] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini T, Landi L, Pierratellera G, Renella G. Microbial diversity and soil functions. *European J Soil Sci.* 2003;54:655-670. http://www.suelos.org.ar/publicaciones/vol_25n1/25_1_nannipieri_89_97.pdf.
- [27] Shah MP. Exploited application of pyrosequencing in microbial diversity of activated sludge system of common effluent treatment plants. *American J Microbiol Res.* 2014;2(5):157-165. <http://pubs.sciepub.com/ajmr/2/5/6/index.html>.
- [28] Lenart A, Kowalska A. Wykorzystanie osadu czynnego w oczyszczaniu ścieków. *Kosmos. Problemy Nauk Biol.* 2012;61(4):677-689. <http://kosmos.icm.edu.pl/PDF/2012/677.pdf>.
- [29] Kuziemska B. Aktywność dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej nikiem. *Ochrona Środ Zasob Natur.* 2012;5:104-105. http://www.ios.edu.pl/pol/pliki/nr52/nr_52_105.pdf.
- [30] Hassen A, Belguith K, Jedidi N, Cherif A, Cherif M, Boudabous A. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresour Technology.* 2001;80(3):217-225. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11601546>.
- [31] Janda K, Falkowski J. Termofilny grzyb *Thermomyces lanuginosus*: występowanie i właściwości. *Postępy Mikrobiologii.* 2003;42(1):55-66. <http://www.pm.microbiology.pl/web/archiwum/vol4212003055.pdf>.
- [32] Swędrzyńska D, Zielewicz W, Swędrzyński A, Starzyk J, Wolna-Maruwka A. Wpływ biokondycjonera glebowego Soleflor na stan środowiska mikrobiologicznego gleby oraz żywotność i plonowanie kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata* L.). *Rocz Ochr Środ.* 2015;17(2):1320-1338. http://ros.edu.pl/images/roczniki/2015/079_ROS_V17_R2015.pdf.
- [33] Worwąg M, Brzeska K, Zawieja I, Bień J. Stabilizacja beztlenowa osadów ściekowych pochodzących z przemysłu celulozowo-papierniczego. *Proc ECOpole.* 2008;2(2):493-498.
- [34] Lombard GL, Dowell VR. Anaerobic growth of molds isolated from fermentation starters used for foods in Asian countries. *Mycologia.* 1985;77(3):390-400. <http://naldc.nal.usda.gov/download/24049/PDF>.
- [35] Jezierska-Tys S, Frąć M. Badanie nad wpływem osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich na aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną gleby. *Acta Agrophys. Rozprawy i monografie.* 2008;3:14-25. http://www.old.acta-agrophysica.org/artykuly/acta_agrophysica/ActaAgr_160_2008_0_3_0.pdf.

ECO TABS™ PREPARATION ACTION IN STABILIZATION OF SEWAGE SLUDGE

PART II: ASSESSMENT OF MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF SLUDGE

¹Department of General and Environmental Microbiology, Poznan University of Life Sciences

²Department of Soil Science and Land Protection, Poznan University of Life Sciences

³Water and Sewage Company in Wrzesnia Ltd

Abstract: Sludge produced in sewage treatment processes is usually stabilized in open fermentation chambers in order to reduce its rotting tendency and to reduce the amount of pathogenic organisms. The content of organic components in sewage sludge (about 80% of dry weight in raw sludge) is a factor that determines the use of biopreparations to accelerate the process of organic mass degradation. Biopreparations are based on appropriately selected native or allochthonous microorganisms. They are carefully selected to match the environmental conditions. Due to practical aspects commercial biopreparations exhibit a wide range of advantages - above all, they can be easily acquired, stored and dosed. *Pseudomonas* and *Bacillus* are the bacterial genera used as

components in biopreparations. They are responsible for optimisation of decomposition of organic matter. They are characterised by unique richness of atypical metabolic pathways, high adaptability to different environmental conditions, formation of endospores (*Bacillus* sp.), degradation of complex and usually toxic substances and facultative switching of the metabolic apparatus to anaerobic conditions (*Pseudomonas* sp.). The aim of the study was to monitor variation in the population of heterotrophic eubacteria and moulds and to monitor dehydrogenases activity in sewage sludge after the application of ECO TABS™ POND TABLETS and ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK biopreparations. The research objects were two fractions of sewage sludge collected from an open fermentation chamber located in a biomechanical sewage treatment plant in Września, Poland. From 27 April to 25 June 2014 15 pieces of ECO TABS™ POND TABLETS and 15 pieces of ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK (ECO TABS™ Europe) were applied daily to the fermentation chamber. As early as the beginning of the experiment we observed that the mixture had split into two fractions: a heavier fraction, which dropped to the bottom of the container and a lighter fraction, which floated in the upper part of the container. In view of this fact, samples for microbiological and biochemical analyses were collected from both fractions simultaneously, every 12-14 days at six consecutive terms and after 25 days at the last term of the research (term I - 27 April 2014, II - 5 May, III - 22 May, IV - 4 June, V - 16 June, VI - 30 June, VII - 25 July 2014). The microbiological analyses consisted in applying Koch's plate technique to determine the total number of heterotrophic bacteria and moulds. The sewage sludge was also analysed biochemically, where spectrophotometry was applied to determine the level of dehydrogenases activity. The research findings revealed that the application of ECO TABS™ POND TABLETS and ECO TABS™ ECO GRANULAR SHOCK biopreparations caused a statistically significant increase in the total number of heterotrophic bacteria and moulds. The biopreparations also increased dehydrogenases activity in the sludge collected both from the upper and lower parts of the fermentation chamber. The greatest proliferation of microorganisms and their highest activity was observed at the last three terms of analyses. Apart from that, the lower fraction of the sewage sludge proved to have greater populations of the microorganisms under study and the microorganisms were more active.

Keywords: biopreparation, microorganisms, sewage sludge, stabilization