POLITECHNIKA ŚLĄSKA
WYDZIAŁ INŻYNIERII ŚRODOWISKA I ENERGETYKI
KATEDRA BIOTECHNOLOGII ŚRODOWISKOWEJ

Zależności ekologiczne bakterii przemian związków azotowych w osadzie czynnym sekwencyjnego reaktora biologicznego podczas prowadzenia procesu anammox

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Anna Banach – Wiśniewska

promotor: dr hab. Aleksandra Ziembińska – Buczyńska, prof. PŚ

GLIWICE 2021

Streszczenie

Zarówno w ekosystemach naturalnych, jak i w układach technologicznych, biochemiczne procesy uczestniczące w transformacji związków azotowych są ze sobą powiązane, a przeprowadzające je grupy bakteryjne, takie jak: bakterie anammox, bakterie I fazy nitryfikacji (AOB, ang. *Ammonia Oxidizing Bacteria*), bakterie II fazy nitryfikacji (NOB, ang. *Nitrite Oxidizing Bacteria*), czy bakterie denitryfikacyjne współwystępują ze sobą i wykazują wzajemne powiązania. Spośród procesów usuwania związków azotu stosowanych w oczyszczalniach ścieków, proces anammox (beztlenowe utlenianie azotu amonowego, ang. *anaerobic ammonium oxidation*) uznawany jest za najbardziej energooszczędny i przyjazny środowisku proces oczyszczania ścieków o wysokim ładunku azotu.

W skład niniejszej rozprawy doktorskiej wchodzą cztery publikacje opisujące zależności ekologiczne pomiędzy poszczególnymi grupami bakterii przemian związków azotowych, które są obecne w sekwencyjnych reaktorach porcjowych (SBR, ang. *Sequencing Batch Reactor*), podczas prowadzenia procesu anammox. Dobór parametrów i konfiguracja reaktorów SBR pozwoliły na badanie ekofizjologii mikroorganizmów i efektywności procesu anammox w zależności od rodzaju pożywki, temperatury, czy immobilizacji badanej biomasy w nośnikach żelowych. Z uwagi na to, że większość bakterii przemian związków azotowych jest niehodowalna w warunkach laboratoryjnych, do badania interakcji pomiędzy nimi zastosowano narzędzia biologii molekularnej, takie jak reakcja łańcuchowa polimerazy – elektroforeza w gradiencie denaturacji (PCR-DGGE, ang. *Polymerase Chain Reaction - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*), ilościowa reakcja PCR (qPCR, ang. *quantitative PCR*), fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH, ang. *Fluorescent in Situ Hybridization*) i sekwencjonowanie nowej generacji (NGS, ang. *Next Generation Sequencing*). Analizy te pozwoliły na: (I) wgląd w ekofizjologię mikroorganizmów obecnych w reaktorach SBR; (II) monitoring gatunków i genotypów dominujących, jak również względnej liczności genów adaptatywnych charakterystycznych dla bakterii przemian związków azotowych; (III) badanie rozmieszczenia przestrzennego poszczególnych grup bakterii przemian azotowych w kłaczkach osadu czynnego oraz (IV) badanie zdolności adaptacyjnych bakterii anammox do zmiennych warunków środowiska.

Jednym z ograniczeń w stosowaniu procesu anammox na szeroką skalę jest wolny wzrost bakterii anammox, co znacznie wydłuża wpracowywanie procesu w układach technologicznych. Dlatego, przedmiotem badań opisanych w publikacji 1 była ekofizjologia i dynamika zmian w strukturze bakterii przemian azotowych podczas wpracowywania procesu anammox w reaktorze SBR. Natomiast, w publikacji 2 proporcje pomiędzy poszczególnymi bakteriami przemian azotowych i zmiany w strukturze zbiorowiska mikroorganizmów badane były podczas zmiany

pożywki zasilającej reaktor SBR, ze ścieków syntetycznych na odcieki rzeczywiste – odcieki składowiskowe. Oprócz wolnego wzrostu bakterii anammox, zastosowanie procesu anammox w głównym ciągu technologicznym oczyszczalni komunalnych jest ograniczone przez wyższą niż temperatura ścieków wpływających do oczyszczalni optymalną temperaturę rozwoju bakterii anammox. Obiecującym rozwiązaniem dla rozwoju wolnorosnących bakterii anammox oraz prowadzenia stabilnego i efektywnego procesu usuwania azotu jest immobilizacja biomasy w nośnikach żelowych, co było przedmiotem badań opisanych w publikacjach 3 i 4. Prowadzenie procesu anammox poniżej jego temperatury optymalnej (tzw. zimny anammox, ang. *cold anammox*) wspomagane było poprzez unieruchamianie bakterii anammox w nośnikach z alginianu sodu z dodatkiem zredukowanego tlenku grafenu, który został zastosowany jako nanomateriał wspomagający proces anammox w niskich temperaturach (publikacja 3) oraz w kombinowanych nośnikach z alginianu sodu i alkoholu poliwinylowego (publikacja 4). Efektywność procesu i interakcje pomiędzy grupami bakteryjnymi wewnątrz nośników monitorowane były podczas obniżania temperatury w reaktorach SBR do 15°C, czyli temperatury zbliżonej do temperatury ścieków w głównym ciągu oczyszczania.

Wyniki przedstawione w publikacjach 3 i 4 wskazują na mniejszy spadek efektywności usuwania azotu podczas zmian temperatur w przypadku biomasy immobilizowanej, co może sugerować, że immobilizacja, zwłaszcza w nośnikach z alginianiu sodu i alkoholu poliwinylowego może mieć właściwości ochronne dla unieruchamianych mikroorganizmów. Zastosowanie immobilizacji w procesie anammox może otworzyć drogę dla szerszej aplikacji procesu w głównym ciągu oczyszczania i przyczynić się do zwiększenia retencji biomasy anammox w układach technologicznych.

Wyniki badań przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej potwierdzają, że bakterie przemian związków azotowych współwystępują w reaktorach SBR, nawet gdy warunki środowiskowe sprzyjają tylko jednej z grup bakteryjnych. W systemach opartych na osadzie czynnym, adaptację do zmiennych warunków środowiskowych powinno się rozpatrywać jako adaptację całej społeczności drobnoustrojów, wraz z interakcjami pomiędzy poszczególnymi grupami bakteryjnymi i dominacją określonych gatunków. Bakterie przemian azotowych w reaktorach SBR wykazują wzajemne zależności opisane w niniejszej rozprawie doktorskiej, zarówno w przypadku biomasy zawieszonej, jak i immobilizowanej w nośnikach. Stosowana technologia może wspierać wzrost konkretnej grupy bakterii przemian azotowych, lecz przedstawione wyniki wskazują na to, że bakterie pozostałych grup są obecne w układzie, a warunki fizykochemiczne wpływają na proporcję nitryfikatorów, denitryfikatorów i bakterii anammox, nie eliminując żadnej grupy z systemu.