

# Charakterystyka biomasy konsorcjów mikroglonowo-bakteryjnych w procesie oczyszczania ciekłej frakcji prefermentowanych komunalnych osadów ściekowych

## Characteristics of the microalgae-bacterial consortia biomass used in the treatment of the liquid fraction of digested municipal sewage sludge

Joanna Kazimierowicz, Marcin Zieliński, Marcin Dębowski, Alona Vdovychenko<sup>\*)</sup>

**Słowa kluczowe:** konsorcja mikroglonowo-bakteryjne, granule mikrobiologiczne, mikroglonowo-bakteryjny osad granulowany, hybrydowy fotobioreaktor, oczyszczanie odcieków pofermentacyjnych

### Streszczenie

Płynna frakcja pochodząca z odwadniania prefermentowanych komunalnych osadów ściekowych stanowi duże wyzwanie technologiczne dla oczyszczalni ścieków, co uzasadnia konieczność poszukiwania skutecznych metod jej neutralizacji. W badaniach analizowano transformację monokultury *Chlorella* sp. do granulowanych konsorcjów mikroglonowo-bakteryjnych (GKM-B) podczas oczyszczania odcieków pofermentacyjnych w fotobioreaktorze hybrydowym (H-FBR). Stabilną strukturę taksonomiczną i morfologiczną GKM-B uzyskano po 60 dniach eksploatacji H-FBR. W jej składzie dominowały *Chlorella* sp., *Microthrix parvicella* oraz bakterie nitkowate typu 1851 i typu 1701. Rozwój populacji bakterii miał istotny wpływ na zwiększenie koncentracji biomasy GKM-B do poziomu  $4800 \pm 503$  mgSM/dm<sup>3</sup> oraz wzrost sprawności usuwania OWO i ChZT z odcieków do poziomu  $88,2 \pm 7,2\%$  i  $84,1 \pm 5,1\%$ . Stężenia związków N i P ograniczono skutecznie niezależnie od składu i koncentracji biomasy w układzie

**Keywords:** microalgae-bacterial consortia, microbial granules, microalgae-bacterial granular sludge, hybrid photobioreactor, treatment of post-fermentation effluents

### Abstract

The liquid fraction from the dewatering of digested municipal sewage sludge is a major technological challenge for sewage treatment plants. This fact justifies the need to search for effective methods of its neutralization. The aim of the study was to analyse the transformation of *Chlorella* sp. monoculture into granular microalgae-bacterial consortia (GKM-B) during the treatment of post-fermentation effluents in a hybrid photobioreactor (H-FBR). A stable taxonomic and morphological structure of GKM-B was obtained after 60 days of H-FBR exploitation. Its composition was dominated by *Chlorella* sp., *Microthrix parvicella* and filamentous bacteria type 1851 and type 1701. The development of the bacterial population had a significant impact on the increase in the GKM-B biomass concentration to the level of  $4800 \pm 503$  mgDM/dm<sup>3</sup> and the increase in the efficiency of TOC and COD removal from the leachates to the level of  $88.2 \pm 7.2\%$  and  $84.1 \pm 5.1\%$ . The concentrations of N and P compounds were effectively reduced regardless of the composition and concentration of biomass in the system.

## Wprowadzenie

Ze względu na systematycznie podnoszone wymagania jakości ścieków oczyszczonych konieczne jest poszukiwanie nowych i wydajnych technologii usuwania zanieczyszczeń. Prace badawcze oraz wdrożeniowe ukierunkowane są na opracowanie rozwiązań pozwalających na sprawny rozkład substancji organicznych i unieszkodliwienie związków biogennych. Priorytetami są uzyskiwane efekty środowiskowe oraz możliwości ograniczenia kosztów inwestycyjnych i operacyjnych. Ważnym aspektem decydującym o wyborze metody oczyszczania ścieków jest jej zgodność z obowiązującymi

załoženiami systemowymi i strategiami, a także promowaną polityką energetyczno – środowiskową. Implementowane rozwiązania technologiczne powinny odpowiadać załoženiom gospodarki obiegu zamkniętego oraz podstawom polityki zero waste i recyklingu materiałowo-energetycznego. Ważne jest również ograniczenie energochłonności poprzez podniesienie wydajności systemu oraz odzysk energii i produktów o wartości dodanej ze ścieków. Wspiera to działania związane z ochroną klimatu, intensyfikujące progres w zakresie energetyki alternatywnej i zgodne z zasadami zrównoważonego rozwoju. Alternatywą dla dotychczas stosowanych rozwiązań jest imple-

<sup>\*)</sup> Joanna Kazimierowicz, Katedra Wodociągów i Kanalizacji, Instytut Inżynierii Środowiska i Energetyki, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, 15-351 Białystok, Polska, j.kazimierowicz@pb.edu.pl; Marcin Zieliński, Katedra Inżynierii Środowiska, Instytut Inżynierii i Ochrony Środowiska, Wydział Geoinżynierii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, 10-720 Olsztyn, Polska, marcin.zielinski@uwm.edu.pl; Marcin Dębowski, Katedra Inżynierii Środowiska, Instytut Inżynierii i Ochrony Środowiska, Wydział Geoinżynierii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, 10-720 Olsztyn, Polska, marcin.debowski@uwm.edu.pl; Alona Vdovychenko, Department of Bioenergy, Bioinformatics and Environmental Biotechnology, Igor Sikorsky, Kyiv Polytechnic Institute, Kyiv, Ukraine, vdovychenko.alona@iill.kpi.ua

mentacja technologii opartych na granulach mikrobiologicznych [15]. Zainteresowanie metodami opartymi na zastosowaniu tlenowego osadu granulowanego i beztlenowego osadu granulowanego, a także granulowanych konsorcjów mikroglonowo – bakteryjnych (GKM-B) dynamicznie rośnie, czego dowodem jest ilość prac naukowych oraz liczba powstających instalacji komercyjnych [10].

Rozwiązania oczyszczania ścieków oparte na tlenowym i beztlenowym osadzie granulowanym wyszły już poza etap prac badawczych i eksperymentalnych [3]. Ich poziom zaawansowania technologicznego pozwala na projektowanie i eksploatację w skali komercyjnej. Natomiast nowym, niewystarczająco rozpoznany kierunkiem biotechnologicznej granulacji mikroorganizmów są systemy oparte na symbiozie mikroglonowo-bakteryjnej [16]. Na podstawie dotychczas uzyskanych i prezentowanych wyników GKM-B postrzegane są jako bardzo obiecujące i uniwersalne rozwiązania, które mogą stanowić konkurencję dla obecnie stosowanych metod oczyszczania ścieków. Prace badawcze obejmujące zagadnienia wytwarzania i skutecznego wykorzystania GKM-B nie są jeszcze zaawansowane. W chwili obecnej prowadzone są głównie eksperymenty w niewielkiej, głównie laboratoryjnej skali [9]. Koncentrują się one przede wszystkim na opracowaniu odpowiednich warunków i optymalnych parametrów technologicznych procesu oczyszczania ścieków. Równie ważnym aspektem jest selekcja właściwych danych eksploatacyjnych i wskaźników środowiskowych umożliwiających powtarzalny i efektywny przebieg procesu granulacji GKM-B.

W porównaniu z konwencjonalnym granulowanym osadem tlenowym, obecność biomasy mikroglonów w strukturze GKM-B wpływa bezpośrednio na podniesienie efektywności usuwania związków azotu i fosforu [18]. Udowodniono również, iż symbioza mikroglonów i bakterii może prowadzić do zwiększenia kumulacji substancji tłuszczowych w strukturze granuli, co bezpośrednio wpływa na podniesienie jej wartości opałowej [1]. Dzięki temu biomasa GKM-B stanowi bardziej uniwersalny i wartościowy substrat dla procesów konwersji energetycznej. Dodatkowo w strukturze GKM-B kumulowane mogą być inne cenne pod kątem gospodarczym substancje, których odzysk z osadu nadmiernego może być uzasadniony technologicznie i ekonomicznie [11]. Między innymi dlatego stają się one obiecującym i perspektywicznym biotechnologicznym rozwiązaniem oczyszczania ścieków. Podkreśla się doskonałą zdolność sedimentacji i separacji tego rodzaju biomasy, sprawne usuwanie zanieczyszczeń, ograniczenie kosztów eksploatacyjnych związanych z napowietrzaniem ścieków przy jednoczesnej produkcji biomasy o wysokiej wartości dodanej.

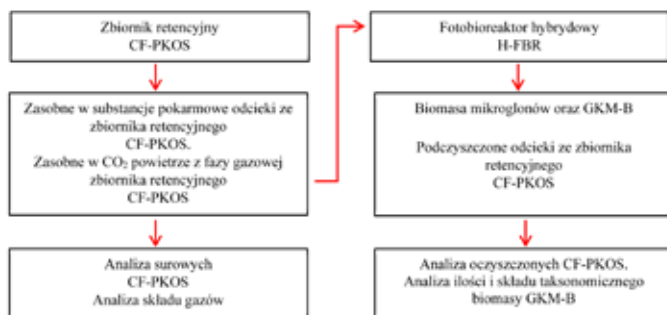
Brakuje badań dotyczących określenia mechanizmów procesów wytwarzania granuli GKM-B, które przeprowadzono w skali ułamkowo-technicznej i pilotowej. Dominują prace eksperymentalne zrealizowane w skali laboratoryjnej. Powiększenie skali prac doświadczalnych jest warunkiem koniecznym do zidentyfikowania rzeczywistych ograniczeń oraz trudności technologicznych i eksploatacyjnych. Pozwala na pozyskanie danych koniecznych do przeprowadzenia realistycznego bilansu kosztów inwestycyjnych i operacyjnych, a także umożliwia oszacowanie uzyskiwanych efektów środowiskowych. Daje również podstawy i odpowiedni zasób informacji do właściwego wykonania analizy cyklu życia (LCA). Celem badań było określenie zmian ilości i charakterystyki taksonomicznej biomasy granulowanych konsorcjów mikroglonowo – bakteryjnych tworzących się podczas oczyszczania odcieków pochodzących z odwadniania przefermentowanych komunalnych osadów ściekowych w fotobioreaktorze hybrydowym eksploatowanym w skali pilotowej.

## Materiały i metody

### Koncepcja badań

Prace badawcze przeprowadzono w skali ułamkowo-technicznej, w fotobioreaktorze hybrydowym (H-FBR) o objętości całkowitej 2,0 m<sup>3</sup>, zasilanym cieplą frakcją przefermentowanych komunalnych

osadów ściekowych (CF-PKOS). H-FBR zlokalizowano na terenie Miejskiej Oczyszczalni Ścieków „Łyna” w Olsztynie. W czasie eksperymentów analizowano efektywność przyrostu biomasy oraz zmiany struktury taksonomicznej GKM-B, a także sprawność usuwania zanieczyszczeń z medium hodowlanego. Wyodrębniono pięć faz eksploatacyjnych H-FBR, których kryterium wyodrębnienia stanowił czas pracy systemu liczony w dobach, a granice między fazami stanowił proces separacji wytworzonej biomasy: faza 0 – początek eksperymentu (F0), faza 1 – okres od 1 do 15 doby (F1), faza 2 – okres od 16 do 30 doby (F2), faza 3 – okres od 31 do 45 doby (F3), faza 4 – okres od 46 do 60 doby (F4). Przebieg prac badawczych zaprezentowano na rysunku 1.

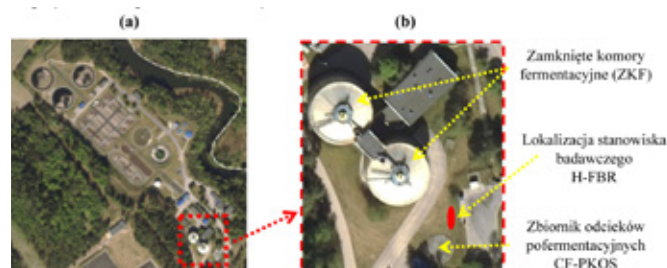


Rys. 1. Ideowy schemat przebiegu prac eksperymentalnych.

Fig 1. Scheme of experimental work.

### Lokalizacja

Badania realizowano na terenie Miejskiej Oczyszczalni Ścieków „Łyna” w Olsztynie (GPS: 53.815152915752584, 20.453615071281686) o  $Q_{d\text{sr.}} = 60000 \text{ m}^3/\text{doba}$ . Technologia oczyszczania ścieków oparta jest na osadzie czynnym z podwyższonym usuwaniem biogenów. Osady nadmierne są stabilizowane w procesie fermentacji metanowej, a następnie odwadniane. CF-PKOS jest recykulowana do komór biologicznych oczyszczalni ścieków. Lokalizację eksperymentów zaprezentowano na rysunku 2.



Rys. 2. Lokalizacja eksperymentu (a) oczyszczalnia ścieków „Łyna” w Olsztynie widok ogólny, (b) miejsce usytuowania H-FBR eksploatowanego w skali ułamkowo-technicznej.

Fig 2. Location of the experiment (a) general view of the WWTP „Łyna” in Olsztyn, (b) location of the H-FBR in semi-technical scale.

### Materiały

W eksperymencie wykorzystywano biomasę *Chlorella* sp. (UTEX 636). Początkowe stężenie biomasy w H-FBR eksploatowanym podczas badań wynosiło 500 mgSM/dm<sup>3</sup>. Właściwe prace eksperymentalne rozpoczęto po jednej pełnej wymianie hydraulicznej H-FBR.

CF-PKOS wykorzystywane do namnażania mikroglonów pozyskiwano ze zbiornika retencyjnego odcieków pofermentacyjnych. Komory fermentacyjne, skąd pochodził CF-PKOS, pracują przy obciążeniu ładunkiem związków organicznych (OLR) około 2,0 kg

SMO/m<sup>3</sup> · d, hydrauliczny czas zatrzymania (HRT) wynosi 20 dni, temperatura procesu 35°C. Objętość czynna H-FBR wynosiła 1,0 m<sup>3</sup>, a ilość CF-PKOS wprowadzana do systemu wynosiła 100,0 dm<sup>3</sup> odcieku/dobę. Komory fermentacyjne oraz magazynowy zbiornik CF-PKOS przedstawiono na rysunku 3.



Rys. 3. Zbiornik magazynowy CF-PKOS (a), zamknięta komora fermentacyjna oraz na pierwszym planie wykorzystywany H-FBR (b).

Fig. 3. Storage tank of the liquid fraction of digested municipal sewage sludge (a), digester chamber with the used H-FBR (b).

Źródłem ditlenku węgla i tlenu dla populacji mikroorganizmów rozwijającej się w H-FBR było powietrze atmosferyczne zasilające medium hodowlane na zasadzie dyfuzji oraz dodatkowo zasobne w CO<sub>2</sub> powietrze z fazy gazowej zbiornika CF-PKOS wprowadzane barbotażowo na dnie H-FBR z wydajnością 50 m<sup>3</sup>/h. Charakterystykę CF-PKOS oraz powietrza z fazy gazowej zbiornika magazynowego CF-PKOS przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Skład CF-PKOS oraz powietrza wprowadzanych do H-FBR

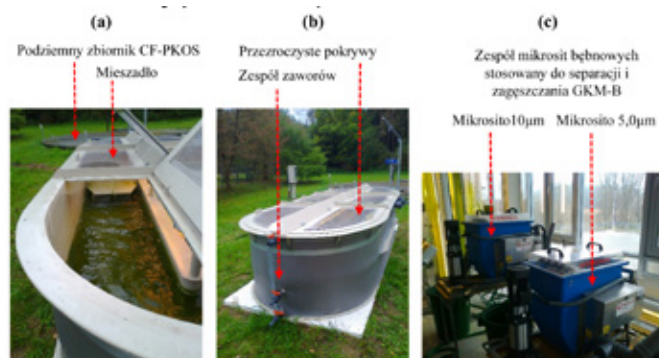
Table 1. Composition of the liquid fraction of digested municipal sewage sludge and air fed into the H-PBR

CF-PKOS		
Wskaźnik	Jednostka	Wartość
ChZT	mgO <sub>2</sub> /dm <sup>3</sup>	719,3±57
OWO	mgC/dm <sup>3</sup>	524±62
P	mgP/dm <sup>3</sup>	26,8±1,8
P-PO <sub>4</sub>	mg P-PO <sub>4</sub> /dm <sup>3</sup>	21,1±2,4
N	mgN/dm <sup>3</sup>	52,9±4,7
N-NH <sub>4</sub>	mg N-NH <sub>4</sub> /dm <sup>3</sup>	46,3±3,9
pH	-	7,24±0,13
Powietrze		
Wskaźnik	Jednostka	Wartość
CO <sub>2</sub>	ppm	790±70
H <sub>2</sub> S	ppm	120±30
O <sub>2</sub>	%	20,81±0,12
N <sub>2</sub>	%	77,94±0,11

### Stanowisko badawcze

Eksperymenty przeprowadzono w hybrydowym zamkniętym fotobioreaktorze typu rowu cyrkulacyjnego z przegrodą centralną konstrukcji własnej (H-FBR). Objętość czynna H-FBR wynosiła 1,0 m<sup>3</sup> i głębokość 0,3 m. Prędkość obrotowa mieszadła wynosiła 30 obr./min, co zapewniało szybkość przepływu na poziomie 0,5 m/s. Do zapewnienia odpowiednich warunków świetlnych w okresie niedoborów promieniowania słonecznego zastosowano lampy fluorescencyjne trójpasmo-  
wymy emitujące światło białe, których sprawność świetlna wynosi 100 lumenów na wat dostarczonej energii. H-FBR przykryto przezroczystą, przepuszczającą światło słoneczne pokrywą. Powierzchnia przepuszczalna dla promieni słonecznych (przezroczyste pokrywy) wynosiła około 2,6 m<sup>2</sup>. System grzewczy składał się z grzałek elektrycznych o mocy grzewczej 1,0 kW. Włączanie systemu grzewczego następowało automatycznie jeżeli temperatura medium hodowlanego osiągała wartość 20°C, natomiast jego wyłączenie inicjował fakt uzyskania temperatury na poziomie 22°C. Biomasa mikrogłonów była zagęszczana i usuwana poza układ technologiczny z wykorzystaniem dwustopniowego systemu mikrosit bębnowych o średnicy oczek 10,0 µm (1 stopień filtracji) i 5,0 µm (2 stopień filtracji) oraz procesu sedymentacji. Elementy stosowanego stanowiska badawczego przedstawiono na rysunku 4.

wymy emitujące światło białe, których sprawność świetlna wynosi 100 lumenów na wat dostarczonej energii. H-FBR przykryto przezroczystą, przepuszczającą światło słoneczne pokrywą. Powierzchnia przepuszczalna dla promieni słonecznych (przezroczyste pokrywy) wynosiła około 2,6 m<sup>2</sup>. System grzewczy składał się z grzałek elektrycznych o mocy grzewczej 1,0 kW. Włączanie systemu grzewczego następowało automatycznie jeżeli temperatura medium hodowlanego osiągała wartość 20°C, natomiast jego wyłączenie inicjował fakt uzyskania temperatury na poziomie 22°C. Biomasa mikrogłonów była zagęszczana i usuwana poza układ technologiczny z wykorzystaniem dwustopniowego systemu mikrosit bębnowych o średnicy oczek 10,0 µm (1 stopień filtracji) i 5,0 µm (2 stopień filtracji) oraz procesu sedymentacji. Elementy stosowanego stanowiska badawczego przedstawiono na rysunku 4.



Rys. 4. Stanowisko badawcze do oczyszczania CF-PKOS (a, b) z produkcją GKM-B oraz dwustopniowym systemem separacji biomasy (c).

Fig. 4. Experimental set-up for treatment of the liquid fraction of digested municipal sewage sludge with M-BGS production (a,b) and a two-stage biomass separation system (c).

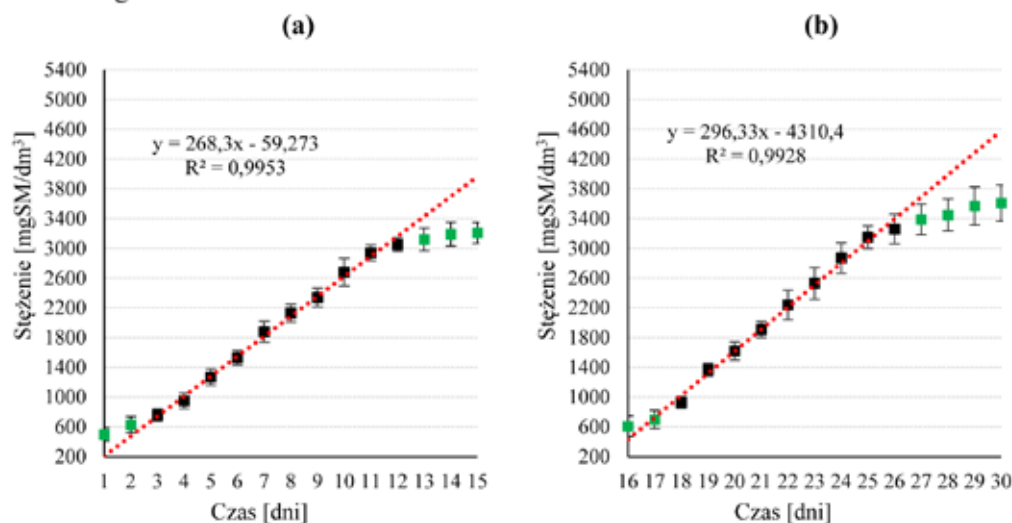
### Metody analityczne i statystyczne

Zawartość suchej masy (SM) oraz suchej masy organicznej (SMO) oznaczono metodą gravimetryczną. Zawartość N, N-NH<sub>4</sub>, P, P-PO<sub>4</sub> oraz ChZT oznaczano z wykorzystaniem testów kuwetowych Hach Lange oraz spektrofotometru UV/VIS DR 5000 z mineralizatorem HT 200s (Hach-Lange GmbH, Düsseldorf, Germany). Zawartość OWO oznaczano z wykorzystaniem analizatora TOC-L (Shimadzu, Kyoto, Japan). Koncentrację tłuszczów oznaczano metodą Soxhleta z wykorzystaniem aparatu do ekstrakcji firmy Buchi (Flawil, Szwajcaria). Analizę statystyczną wykonano oprogramowaniem STATISTICA 13.1 PL. Do określenia istotności różnic między zmiennymi zastosowano ANOVA oraz test RIR Tukeya. W testach przyjęto poziom prawdopodobieństwa p = 0,05.

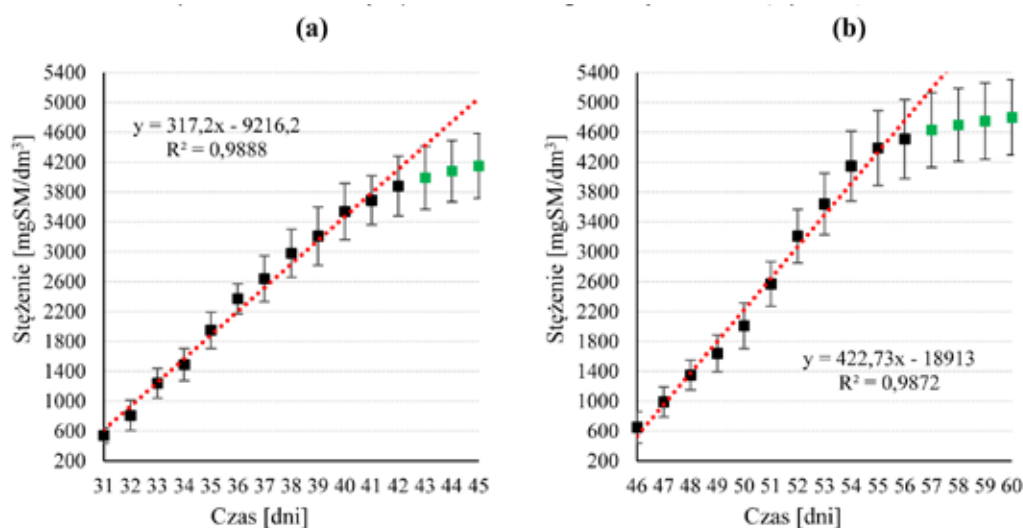
### Wyniki i dyskusja

#### Przyrost i struktura taksonomiczna biomasy

W dwóch pierwszych cyklach eksploatacyjnych H-FBR obserwowano typowe dla rozwoju biomasy mikrogłonów fazy wzrostu. Podczas początkowych 3 dni procesu zidentyfikowano fazę adaptacyjną, gdzie zachodziła indukcja przyrostu biomasy (Rys. 5a). W tym okresie obserwowano wzrost koncentracji mikrogłonów w zakresie od 500±90 mgSM/dm<sup>3</sup> do 760±83 mgSM/dm<sup>3</sup>. Następnie do 12 dnia stwierdzono fazę wzrostu logarytmicznego, która pozwoliła na uzyskanie 3050±94 mgSM/dm<sup>3</sup>. W dniach od 13 do 15 nastąpiło spowolnienie i osiągnięcie fazy stacjonarnej, a ostateczne stężenie biomasy osiągnęło poziom 3210±140 mgSM/dm<sup>3</sup> (Rys. 5a). W fazie wzrostu wykładniczego szybkość przyrostu biomasy wynosiła 268±12 mgSM/dm<sup>3</sup>·doba. W drugim cyklu trwającym od



Rys. 5. Wydajność produkcji biomasy GKM-B w (a) pierwszej (1 – 15 dni) oraz (b) drugiej (16 – 30 dni) fazie eksploatacji H-FBR.  
Fig. 5. Microalgal-bacterial granular biomass production in phases: (a) phase 1 (days 1–15) and (b) phase 2 (days 16–30) of the H-FBR operation.



Rys. 6. Wydajność produkcji biomasy GKM-B w (a) trzeciej (31 – 45 dni) oraz (b) czwartej (46 – 60 dni) fazie eksploatacji H-FBR.  
Fig. 6. Microalgal-bacterial granular biomass production in phases: (a) phase 3 (days 31–45) and (b) phase 4 (days 46–60) of the H-FBR operation.

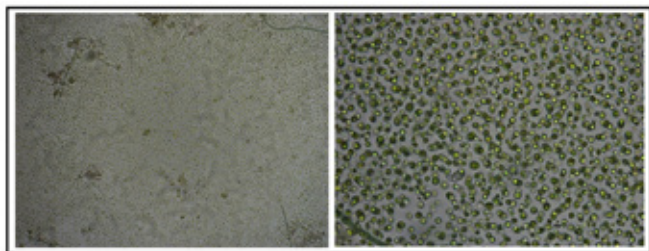
16 do 30 dnia lag faza trwała również 3 dni. Obserwowany przyrost biomasy tworzącego się GKM-B mieścił się w granicach od  $610 \pm 139$  mgSM/dm<sup>3</sup> do  $930 \pm 77$  mgSM/dm<sup>3</sup>, by w kolejnych dniach istotnie przyspieszyć (Rys. 5b). Przez kolejne 8 dni zachowany był wzrost logarytmiczny, by 26 osiągnąć poziom  $3260 \pm 199$  mgSM/dm<sup>3</sup>. Następnie biocenoza charakteryzowała się spowolnieniem i osiągnięciem fazy stacjonarnej na poziomie  $3610 \pm 242$  mgSM/dm<sup>3</sup> (Rys. 5b). W fazie wzrostu wykładniczego szybkość wzrostu była istotnie wyższa od notowanej poprzednio i wynosiła  $296 \pm 17$  mgSM/dm<sup>3</sup>·doba.

Istotnie wyższą wydajność przyrostu biomasy GKM-B stwierdzono w kolejnym cyklu eksperymentalnym. Ze względu na znaczny udział bakterii stwierdzono zaburzenie klasycznego profilu przyrostu biomasy. Od początku obserwowano szybki logarytmiczny wzrost populacji mikroorganizmów (Rys. 6). W okresie od 31 do 43 dnia koncentracja biomasy mikroglonów i organizmów osadu czynnego wzrosła od  $540 \pm 103$  mgSM/dm<sup>3</sup> do  $3990 \pm 422$  mgSM/dm<sup>3</sup>, co było efektem tempa przyrostu na poziomie  $317 \pm 29$  mgSM/dm<sup>3</sup>·doba. Po tym okresie populacja GKM-B osiągnęła fazę spowolnienia, a notowany wzrost koncentracji biomasy nie był istotny statystycznie. Na zakończenie tej fazy hodowli osiągnięto  $4250 \pm 432$  mgSM/dm<sup>3</sup> (Rys. 6a). W okresie od 46 do 60 dnia biocenoza osiągnęła ostateczny poziom rozwoju struktury i populacji i nie zmieniała się w czasie podczas dalszej eksploatacji H-FBR. W pełni ukształtowana biomasa GKM-B przyrastała z najwyższą obserwowaną szybkością wynoszącą  $423 \pm 39$  mgSM/dm<sup>3</sup>·doba.

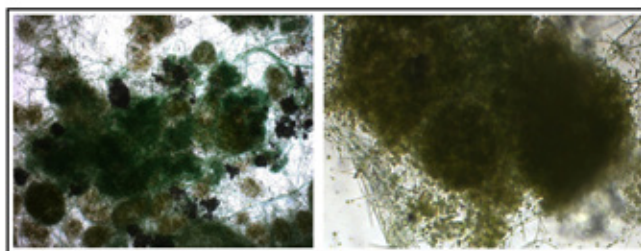
Nie obserwowano indukcyjnej fazy wzrostu biomasy, a ostateczna koncentracja ustalała się na poziomie  $4800 \pm 503$  mgSM/dm<sup>3</sup>, co było wartością istotnie wyższą od obserwowanych we wcześniejszych fazach eksploatacji H-FBR (Rys. 6b).

Prezentowane w literaturze badania wykazują ogromny potencjał GKM-B w zakresie oczyszczania ścieków komunalnych. W pracach Zhang i in. (2020) [17] stwierdzono, iż populacja GKM-B stale wzrastała podczas oczyszczania modelowych ścieków komunalnych. Ostateczna koncentracja biomasy w reaktorach wynosiła  $5,77 \pm 0,08$  g/dm<sup>3</sup>. W pracy Wang i in. (2021) [14] udowodniono, iż biomasa konsorcjów mikroglonowo – bakteryjnych może osiągać koncentrację na poziomie  $7,89 \pm 0,03$  g/dm<sup>3</sup> podczas oczyszczania ścieków syntetycznych. Natomiast Dong i in. (2021) [4] podczas oczyszczania ścieków zasolonych w okresie od 1 do 21 dnia uzyskali koncentrację GKM-B na poziomie  $4,42 \pm 0,16$  g/dm<sup>3</sup>, w dniach od 22 do 32 było to  $4,34 \pm 0,09$  g/dm<sup>3</sup>. W kolejnych dniach następował istotny spadek stężenia biomasy w reaktorze. W okresie od 33 do 60 dnia koncentracja biomasy wynosiła  $3,20 \pm 0,11$  g/dm<sup>3</sup>, a w dniach od 61 do 110 osiągnęła wartość  $1,23 \pm 0,08$  g/dm<sup>3</sup>. Spekuluje się, iż wzrost niektórych mikroorganizmów w granulach może być poważnie zahamowany przy uszkodzeniu struktury komórek drobnoustrojów pod wpływem warunków wyższego poziomu zasolenia, co prawdopodobnie prowadzi do wymywania części biomasy GKM-B z reaktora.

W początkowej fazie eksploatacji H-FBR w biocenozie dominowały mikroglony *Chlorella* sp., które stanowiły blisko 100%SM



Rys. 7. Biomasa *Chlorella* sp. na początku cyklu eksperymentalnego.  
Fig 7. *Chlorella* sp. biomass at the beginning of the experimental cycle



Rys. 8. Charakterystyczny obraz GKM-B po 60 dniach eksploatacji H-FBR.  
Fig 8. Characteristic views of the microalgal-bacterial granular biomass after 60 days F-PBR exploitation

(Rys. 7). Do 30 dnia organizmy charakterystyczne dla osadu czynnego w całkowitej biomacie utrzymywały się poniżej 30%SM, a mianowicie  $22 \pm 7\%$ SM po 15 dniach hodowli oraz  $29 \pm 9\%$ SM w biomacie pozyskanej po 30 dniach eksploatacji H-FBR. Udział bakterii i pierwotniaków w tworzącym się GKM-B stwierdzono po 45 dniach prowadzenia eksperymentu. Zawartość drobnoustrojów heterotroficznych oszacowano na  $47 \pm 12\%$ SM. Po 60 dniach biomasa mikroorganizmów osadu czynnego stanowiła około  $43 \pm 9\%$ SM całkowitej biocenozy GKM-B, a obserwowana struktura taksonomiczna była stabilna podczas dalszej eksploatacji H-FBR (Rys. 8). W sztucznym ekosystemie zasilanym CF-PKOS prócz mikroglonów *Chlorella* sp. dominowały nitki z gatunku *Microthrix parvicella*, bakterie nitkowate typu 1851 i typu 1701 oraz *Streptococcus* sp. Znacznie wolniej rozwijały się

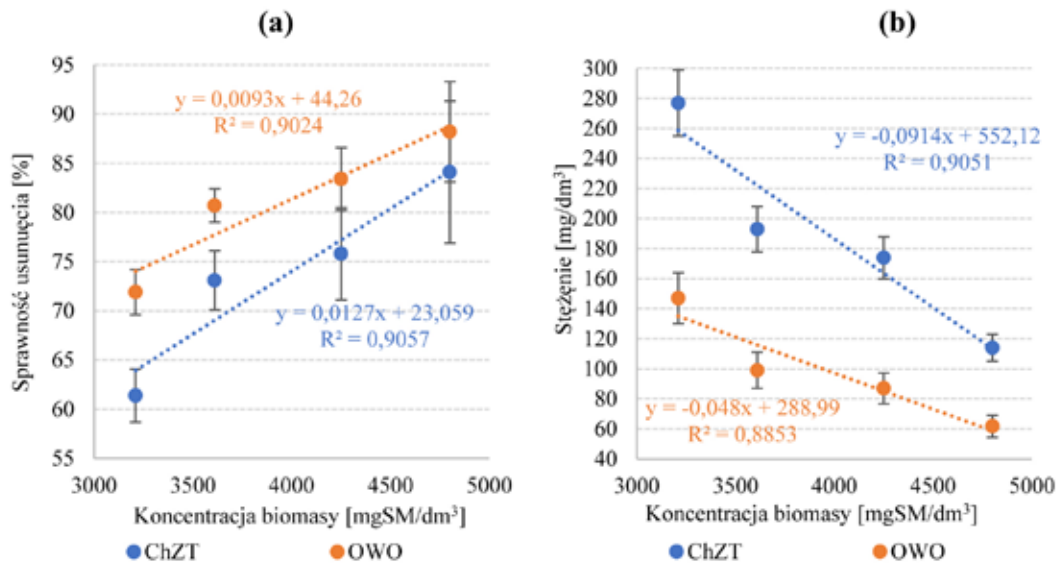
formy jednokomórkowe i stanowiły nieznaczny udział w biocenozy GKM-B. Zidentyfikowano bakterie z rodzaju *Pseudomonas* sp., *Nitrosomonas* sp., *Azotobacter* sp., *Achromobacter* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Mycobacterium* sp. Protozoa były reprezentowane głównie przez orzęski, *Aspidisca cicada*, *Drepanomonas revoluta* i *Vorticella infusionum*. Średni ich udział w populacji protozoa wyniósł odpowiednio 61, 15 i 6%. Stwierdzono również obecność saprofelowych wiciowców *Trigonomonas*, *Paramecium caudatum* korzenionózek bezdomkowych.

Dotychczasowe prace badawcze wskazują, iż podstawowym mechanizmem powstawania GKM-B jest proces samoagregacji drobnoustrojów w fotobioreaktorach. Udowodniono, iż powstałe w ten sposób granule charakteryzują się dużą stabilnością, zwartością oraz gęstością,

Tabela 2. Charakterystyczne wskaźniki procesu oczyszczania CF-PKOS.

Table 2. Characteristic indicators of the liquid fraction of digested municipal sewage sludge purification process

Parametr	Stężenie końcowe [mg/dm <sup>3</sup> ]				Sprawność [%]			
	15 dzień	30 dzień	45 dzień	60 dzień	15 dzień	30 dzień	45 dzień	60 dzień
ChZT	277±22	193±15	174±14	114±9	61,4±2,3	73,1±1,7	75,8±3,2	84,1±5,1
OWO	147±17	99,0±12	87,0±10,3	61,8±7,4	71,9±2,7	80,7±3,0	83,4±4,7	88,2±7,2
P	7,69±0,82	7,54±0,81	7,58±0,81	7,36±0,79	54,2±4,1	55,1±3,9	54,9±3,8	56,2±4,6
P-PO <sub>4</sub>	0,98±0,23	1,25±0,30	1,19±0,28	1,10±0,26	90,3±1,7	87,6±1,2	88,2±2,3	89,1±1,1
N	15,2±1,3	15,6±1,4	17,4±1,6	16,5±1,5	71,3±3,1	70,5±2,9	67,2±2,4	68,9±3,1
N-NH <sub>4</sub>	5,00±0,42	4,31±0,36	5,93±0,50	5,51±0,46	89,2±1,4	90,7±1,7	87,2±1,3	88,1±1,6
Parametr	Ładunek wprowadzony [g/doba]				Ładunek usunięty [g/doba]			
	15 dzień	30 dzień	45 dzień	60 dzień	15 dzień	30 dzień	45 dzień	60 dzień
ChZT	71,9±5,7	44,1±3,5	52,6±4,2	54,5±4,3	60,5±4,8			
OWO	52,4±6,2	37,7±4,4	42,3±5,0	43,7±5,2	46,2±5,5			
P	2,68±0,18	1,45±0,14	1,48±0,11	1,47±0,09	1,51±0,16			
P-PO <sub>4</sub>	2,11±0,24	1,91±0,22	1,85±0,20	1,86±0,18	1,88±0,32			
N	5,29±0,47	3,77±0,33	3,73±0,45	3,55±0,24	3,64±0,32			
N-NH <sub>4</sub>	4,63±0,39	4,13±0,47	4,20±0,71	4,04±0,62	4,08±0,91			
Parametr	Przyrost biomasy [gSM/gwp.]				Przyrost biomasy [gSM/gus.]			
	15 dzień	30 dzień	45 dzień	60 dzień	15 dzień	30 dzień	45 dzień	60 dzień
ChZT	3,73±0,39	6,70±0,51	6,03±0,72	7,74±0,93	6,07±0,22	5,63±0,47	5,82±0,64	6,98±0,88
OWO	5,11±0,68	5,65±0,43	6,05±0,88	8,05±1,02	7,11±0,83	7,00±0,63	7,25±1,01	9,13±1,14
P	100±12	110±11	118±14	157±17	184±19	200±23	215±18	280±22
P-PO <sub>4</sub>	127±16,1	140±12,9	150±17,3	200±21,5	141±18,9	160±14,6	170±17,9	224±23,8
N	50,7±5,2	56,0±3,1	59,9±5,4	79,8±5,9	71,1±6,3	79,4±4,8	89,2±9,1	115,8±11,0
N-NH <sub>4</sub>	57,9±5,9	63,9±4,0	68,5±5,8	91,1±8,1	64,9±7,2	70,5±5,5	78,5±6,1	103±9,9



Rys. 9. Zależności między koncentracją biomasy GKM-B a sprawnością usuwania (a) i stężeniem związków organicznych na odpływie z H-FBR (b).

Fig. 9. Correlations between the microalgal-bacterial granular biomass concentration and removal efficiency (a) and the concentration of organic compounds in the outflow from H-FBR (b).

która pozwala na efektywne usuwanie zanieczyszczeń oraz skuteczną separację biomasy GKM-B w procesie grawitacyjnej sedimentacji lub prostej filtracji. Stwierdzono również, iż istotnym elementem w powstawaniu stabilnych i zwartych granul jest obecność w biocenozie bakteryjnej osadu czynnego bakterii nitkowatych. Stanowią one szkielet i konstrukcję granul, do którego dzięki zewnętrzny substancjom polimerowym przyłączane są kolejne komórki bakterii i mikroglonów [6]. W badaniach Shen et al. (2021) [13] w składzie taksonomicznym GKM-B dominującymi grupami funkcjonalnymi sklasyfikowanymi na poziomie rodzaju były *Pseudomonas*, *Thauera*, *Acinetobacter*, *Flaviumibacter*, *Pseudoxanthomonas*, *Aquimonas*, *Gemmatimonas*, *Leptolyngbyales*. W pracach Fan et al. (2021) [5] stwierdzono, iż na poziomie rodzaju dominującą społecznością bakteryjną w GKM-B były *Rhizobium* i *Proteiniclasticum*. Społeczność alg eukariotycznych została zdominowana przez rodzaj *Chlorella* należący do gromady *Chlorophyta*. Należy podkreślić, iż w pracach innych autorów wykorzystywano syntetyczne ścieki komunalne.

### Efektywność usuwania zanieczyszczeń

Udowodniono, iż proces kształtowania się GKM-B miał istotny wpływ na usuwanie związków organicznych z CF-PKOS. Stwierdzono, iż wzrost udziału bakterii i protozoa poprawiał efektywność biodegradacji zanieczyszczeń charakteryzowanych wskaźnikami ChZT oraz OWO. W F1 eksploatacji H-FBR, gdzie w biocenozie dominowały mikroglony *Chlorella* sp. usuwanie ChZT zachodziło ze sprawnością 61,4±2,3%, natomiast stężenie OWO zostało zmniejszone o 71,9±2,7% (Tabela 2). Na odpływie notowano kolejno 277±22 mgO<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> oraz 147±17 mg/dm<sup>3</sup>. W F2 (16 – 30 dzień) oraz F3 (31 – 45 dzień) obserwowano zbliżoną efektywność biodegradacji związków organicznych, która wynosiła kolejno 73,1±1,7% i 75,8±3,2% dla ChZT oraz 80,7±3,0% i 83,4±4,7% w przypadku OWO. W F2 i F3 eksploatacji wartości ChZT na odpływie nie przekraczały 100 mgO<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>, OWO natomiast 200 mg/dm<sup>3</sup>. Były to wartości istotnie niższe w stosunku do uzyskanych w F1 eksperymencie (Tabela 2). Najwyższymi efektami technologicznymi związanymi z usuwaniem zanieczyszczeń organicznych charakteryzowała się F4 eksploatacji obejmująca okres od 46 do 60 dnia pracy H-FBR. W tej części badań ChZT w podczyszczonych CF-PKOS wynosiło 114±9 mgO<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>, co było skutkiem 84,1±5,1% sprawności biodegradacji. OWO natomiast usuwane było z 88,2±7,2%, co skutkowało uzyskaniem na odpływie 61,8±7,4 mg/dm<sup>3</sup> (Tabela 2).

Różny, obserwowany poziom biodegradacji zanieczyszczeń organicznych wpływał bezpośrednio na istotne różnice w wielkościach ładunku usuwanego w procesie oczyszczania CF-PKOS. W przypadku ChZT mieściły się one w zakresie od 44,1±3,5 gChZT/doba w F1 do 60,5±4,8 gChZT/doba w F4. W przypadku OWO natomiast od 37,7±4,4 gOWO/doba w F1 do 46,2±5,5 gOWO/doba w F4 (Tabela 2). Stwierdzono korelacje między koncentracją biomasy w H-FBR (Rys. 9), a wydajnością usuwania i końcowym stężeniem zanieczyszczeń organicznych.

Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, iż zmiany w strukturze taksonomicznej biomasy nie miały istotnego wpływu na wydajność usuwania związków N i P z CF-PKOS. Niezależnie od fazy eksperymentu obserwowano zbliżone końcowe efekty technologiczne (Tabela 2). Usuwanie N zachodziło ze sprawnością od 67,2±2,4% w F3 do 71,3±3,1% w F1, co skutkowało stężeniem na odpływie od 15,2±1,3 mgN/dm<sup>3</sup> do 17,4±1,6 mgN/dm<sup>3</sup>. Stwierdzone różnice nie miały znaczenia statystycznego. Wyrównane efekty oczyszczania, niezależne od fazy eksploatacji H-FBR stwierdzono dla związków P. Koncentracja P na odpływie kształtowała się w wąskim zakresie od 7,36±0,79 mgP/dm<sup>3</sup> do 7,69±0,82 mgP/dm<sup>3</sup>, natomiast P-PO<sub>4</sub> w granicach od 0,98±0,23 mg/dm<sup>3</sup> do 1,25±0,30 mg/dm<sup>3</sup>.

Twierdzi się, iż w systemach symbiotycznego wzrostu struktur GKM-B mikroglony są odpowiedzialne za intensyfikację procesów usuwania związków azotu i fosforu, natomiast organizmy osadu czynnego za biodegradację związków organicznych [8]. W strukturze GKM-B mikroglony odpowiedzialne są również za wytwarzanie tlenu niezbędnego dla bakterii [10]. Zmniejszenie zapotrzebowania na tlen to główna przeszkoda w ograniczeniu energochłonności i emisyjności systemów oczyszczania ścieków opartych na metodzie osadu czynnego. Z drugiej strony efektem bakteryjnej biodegradacji zanieczyszczeń są zmineralizowane formy azotu i fosforu oraz ditlenek węgla, które intensyfikują rozwój mikroglonów w strukturze GKM-B [7]. Nguyen i in. (2021) [12] udowodnili, iż sprawność usuwania zanieczyszczeń ze ścieków syntetycznych w systemie GKM-B wynosiła 96,5% dla ChZT, od 78 do 85% dla związków azotu i 80,8% w przypadku związków fosforu. Wang i in. (2021) [14] w systemie GKM-B uzyskali 98% usuwania ChZT ze ścieków syntetycznych. Sprawności usuwania związków biogenych wynosiły odpowiednio 78% dla związków azotu i 71% dla związków fosforu. Udowodniono, iż podwyższone stężenia biodegradowalnych związków organicznych w środowi-

sku, powodują zmianę metabolizmu mikroglonów na miksotroficzny lub wręcz heterotroficzny, co wspomaga usuwanie substancji węglowych ze ścieków [2].

## Wnioski

W odróżnieniu od bakteryjnych tlenowych i beztlenowych osadów granulowanych, wykorzystanie GKM-B jest w chwili obecnej rozwiązaniem, które pozostaje ciągle w sferze prac badawczo-rozwojowych. Nie zweryfikowano wystarczająco dokładnie procesów prowadzących do mikroglonowo-bakteryjnej granulacji. Brakuje badań nad wpływem różnych czynników eksploatacyjnych i środowiskowych na tworzenie się granulowanej struktury i utrzymanie jej w czasie długotrwałej eksploatacji bioreaktorów. Istnieje zatem uzasadniona potrzeba uzupełniania dostępnych danych, szczególnie wynikami uzyskanymi z badań w skali zbliżonej do instalacji komercyjnych.

Badania udowodniły, iż proces oczyszczania CF-PKOS z wykorzystaniem biomasy *Chlorella* sp. prowadzi do rozwoju konsorcjum biomasy mikroglonów i organizmów osadu czynnego, a w konsekwencji wytworzenia struktury GKM-B. Stwierdzono, iż kształtowanie się ostatecznej struktury taksonomicznej i morfologicznej GKM-B uzyskano po 60 dniach eksploatacji H-FBR. Po tym czasie nie obserwowano już ewolucji w budowie, strukturze taksonomicznej i chemicznej, wydajności oczyszczania CF-PKOS. Prócz mikroglonów *Chlorella* sp. dominowały nitki z gatunku *Microthrix parvicella*, bakterie nitkowate typu 1851 i typu 1701. Znacznie wolniej rozwijały się formy jednokomórkowe i protozoa. Biomasa mikroorganizmów osadu czynnego stanowiła około 43%SM całkowitej biocenozy GKM-B.

Udowodniono, iż rozwój populacji bakterii ma istotny wpływ na zmianę przebiegu krzywej wzrostu populacji, przyspieszenie tempa przyrostu biomasy GKM-B oraz zwiększenie jej ostatecznej koncentracji w H-FBR. Istotnie wyższą końcową koncentrację biomasy obserwowano po 45 dniach eksploatacji układu technologicznego oczyszczania CF-PKOS.

Wzrost koncentracji biomasy GKM-B oraz rosnący udział drobnoustrojów heterotroficznych miały decydujący wpływ na zwiększenie wydajności usuwania zanieczyszczeń organicznych z CF-PKOS. Nie stwierdzono natomiast zależności między tymi cechami CF-PKOS w przypadku usuwania związków N i P. Stężenia związków biogenych zmniejszane były skutecznie niezależnie od fazy eksploatacji H-FBR. ■

## LITERATURA

- [1] Cao Jinhua, Fanzhen Chen, Zheng Fang, Yue Gu, Hao Wang, Jingfang Lu, Yanmeng Bi, Shaopo Wang, Wenli Huang, Fansheng Meng. 2022. "Effect of filamentous algae in a microalgal-bacterial granular sludge system treating saline wastewater: Assessing stability, lipid production and nutrients removal" *Bioresour. Technol.* 354: 127182.
- [2] Chalima Angelina, Laura Oliver, Laura Fernández de Castro, Anthi Karnauri, Thomas Dietrich, Evangelos Topakas. 2017. "Utilization of Volatile Fatty Acids from Microalgae for the Production of High Added Value Compounds". *Ferment.* 3 (4): 54.
- [3] Chen Han, Ang Li, Di Cui, Chongwei Cui, Fang Ma. 2019. "Evolution of microbial community and key genera in the formation and stability of aerobic granular sludge under a high organic loading rate". *Bioresour. Technol. Reports* 7: 100280.
- [4] Dong Xiaochuan, Ziwen Zhao, Xiaojing Yang, Zhongfang Lei, Kazuya Shimizu, Zhenya Zhang, Duu-Jong Lee. 2021. "Response and recovery of mature algal-bacterial aerobic granular sludge to sudden salinity disturbance in influent wastewater: Granule characteristics and nutrients removal/accumulation". *Bioresour. Technol.* 321: 124492.
- [5] Fan Siqi, Lin Zhu, Bin Ji. 2021. "Deciphering the effect of light intensity on microalgal-bacterial granular sludge process for non-aerated municipal wastewater treatment". *Algal Res.* 58: 102437.
- [6] He Qiulai, Li Chen, Shujia Zhang, Rongfan Chen, Hongyu Wang, Wei Zhang, Jianyang Song. 2018. "Natural sunlight induced rapid formation of water-born algal-bacterial granules in an aerobic bacterial granular photo-sequencing batch reactor". *J. Hazard. Mater.* 359: 222–230.
- [7] Hou Huan, Shulian Wang, Bin Ji, Yu Zhang, Kewu Pi, Yafei Shi. 2022. "Adaptation responses of microalgal-bacterial granular sludge to polystyrene microplastic particles in municipal wastewater". *Environ. Sci. Pollut. Res.* 29 (40), 59965–59973.
- [8] Iqbal Khushboo, Abhishek Saxena, Priyanshi Pande, Archana Tiwari, Naveen Chandra Joshi, Ajit Varma, Arti Mishra. 2022. "Microalgae-bacterial granular consortium: Striding towards sustainable production of biohydrogen coupled with wastewater treatment". *Bioresour. Technol.* 354: 127203.
- [9] Ji Bin, Yuting Shi, Murat Yilmaz. 2022. "Microalgal-bacterial granular sludge process for sustainable municipal wastewater treatment: Simple organics versus complex organics". *J. Water Process Eng.* 46: 102613.
- [10] Ji Bin. 2022. "Towards environment-sustainable wastewater treatment and reclamation by the non-aerated microalgal-bacterial granular sludge process: Recent advances and future directions". *Sci. Total Environ.* 806: 150707.
- [11] Jiang Qianrong, Honglei Chen, Zeding Fu, Xiaohua Fu, Jiacheng Wang, Yingqi Liang, Hailong Yin, Junbo Yang, Jie Jiang, Xinxin Yang, He Wang, Zhiming Liu, Rongkui Su. 2022. "Current progress, challenges and perspectives in the microalgal-bacterial aerobic granular sludge process: A review. *Int. J. Environ. Res. Public Heal.* 19 (21): 13950.
- [12] Nguyen Bach Van, Xiaojing Yang, Shota Hirayama, Jixiang Wang, Ziwen Zhao, Zhongfang Lei, Kazuya Shimizu, Zhenya Zhang, Sinh Xuan Le. 2021. "Effect of salinity on Cr(VI) bioremediation by algal-bacterial aerobic granular sludge treating synthetic wastewater". *Process* 9 (8): 1400.
- [13] Shen Yao, Lin Zhu, Bin Ji, Siqi Fan, Yabin Xiao, and Yingqun Ma. 2021. "Reactivation of frozen stored microalgal-bacterial granular sludge under aeration and non-aeration conditions". *Water (Switzerland)* 13 (14): 1974.
- [14] Wang Jixiang, Zhongfang Lei, Caixing Tian, Sen Liu, Qian Wang, Kazuya Shimizu, Zhenya Zhang, Yasuhisa Adachi, Duu-Jong Lee. 2021. "Ionic response of algal-bacterial granular sludge system during biological phosphorus removal from wastewater". *Chemosphere* 264: 128534.
- [15] Wilén Britt-Marie, Raquel Liébana, Frank Persson, Oskar Modin, Malte Hermansson. 2018. "The mechanisms of granulation of activated sludge in wastewater treatment, its optimization, and impact on effluent quality". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102 (12): 5005–5020.
- [16] Zhang Xiaoyuan, Zhongfang Lei, Yu Liu. 2022. "Microalgal-bacterial granular sludge for municipal wastewater treatment: From concept to practice". *Bioresour. Technol.* 354: 127201.
- [17] Zhang Yihao, Xiaochuan Dong, Sen Liu, Zhongfang Lei, Kazuya Shimizu, Zhenya Zhang, Yasuhisa Adachi, Duu-Jong Lee. 2020. "Rapid establishment and stable performance of a new algal-bacterial granule system from conventional bacterial aerobic granular sludge and preliminary analysis of mechanisms involved". *J. Water Process Eng.* 34: 101073.
- [18] Zhang Yuqing, Minchao Zha, Mingming Gao, Xinhua Wang. 2022. "How weak static magnetic field contributes to rapid granulation and better performance of microalgal-bacterial granular sludge?" *Chem. Eng. J.* 450: 138162.