

Ewa GALAS\*

## **PROCES DEFOSFATACJI DENITRYFIKACYJNEJ**

Przez wiele lat uważano, że bakterie defosfatacyjne mogą rosnąć i nadmiarowo gromadzić fosfor jedynie w warunkach beztlenowo-tlenowych. Dopiero w latach 80 XXw. odkryto, że w warunkach braku tlenu rozpuszczonego, a przy obecności azotanów bakterie zdolne do nadmiarowego akumulowania fosforanów jednocześnie usuwają azot i fosfor, a proces ten nazwano defosfatacją denitryfikacyjną. Z uwagi na korzyści jakie niesie symultaniczne usuwanie fosforu i azotu proces ten stanowi ciekawą alternatywę dla drogiej metod chemicznych oraz tlenowych metod biologicznych.

### **1. WSTĘP**

Proces wzmożonej biologicznej defosfatacji jest jedną z najpopularniejszych metod usuwania związków fosforu ze ścieków. Przez wiele lat uważano, że mikroorganizmy defosfatacyjne – bakterie PAO (ang. Phosphate Accumulating Microorganisms) mogą wzrastać i gromadzić fosfor w postaci wewnątrzkomórkowych ziaren polifosforanów jedynie w warunkach tlenowych. Dopiero w latach 80 ubiegłego wieku zaobserwowano, że jeśli w warunkach braku tlenu rozpuszczonego w oczyszczalni ścieków wystąpią azotany bakterie zdolne do nadmiarowego akumulowania fosforanów mogą wykorzystać je, jako akceptor elektronów w procesie utleniania kwasu poli- $\beta$ -hydroksymasłowego (PHB). Wykryto również, że w warunkach, beztlenowo-anoksydacyjnych możliwe jest równoczesne usuwanie fosforu i azotu poprzez redukcję azotanów do azotu gazowego przez denitryfikujące bakterie akumulujące polifosforany tzw. bakterie dPAO (ang. Denitrification Phosphate Accumulating Microorganisms). Odkrycie możliwości symultanicznego usuwania azotu i fosforu w procesie denitryfikacji defosfatacyjnej zapoczątkowało badania nad oceną ilościową bakterii

---

\* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, ul. Wyb. Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław.

zdolnych do akumulacji ortofosforanów w warunkach anoksydacyjnych bytujących w osadzie czynnym [5, 6, 8].

## 2. DENITRYFIKUJĄCE BAKTERIE DEFOSFATACYJNE

Denitryfikujące bakterie defosfatacyjne są mikroorganizmami zdolnymi do nadmiarowego gromadzenia związków fosforu w naprzemiennych warunkach beztlenowo-anoksydacyjnych. Bakterie te posiadają zdolność do symultanicznego usuwania fosforu i azotu poprzez wykorzystanie azotanów lub/ i azotynów, jako akceptora elektronów w procesie utleniania kwasu poli- $\beta$ -hydroksymasłowego (PHB). Zachodzą wówczas dwa powszechnie znane i stosowane procesy defosfatacji biologicznej i heterotroficznej denitryfikacji dysymilacyjnej [1, 7]. W literaturze opisano dwie teorie dotyczące występowania zdolności do nadmiarowego gromadzenia fosforu w warunkach anoksydacyjnych.

Pierwsza teoria według Kernn, Jespersena i Henza zakłada, że w beztlenowo-tlenowych układach oczyszczania ścieków mogą występować dwa typy bakterii akumulujących fosforany:

- pierwszy typ- bakterie wykorzystujące tylko tlen, jako akceptor elektronów oraz
- drugi typ- bakterie wykorzystujące zarówno tlen jak i azotany, jako akceptor elektronów.

Ponadto, Hu i wsp. wskazali trzeci typ mikroorganizmów, dla których oprócz tlenu i azotanów akceptorem elektronów mogą być również azotyny[8].

Druga teoria głosi, że jest to jedna populacja bakterii, w której w zależności od panujących warunków występują różne poziomy indukcji aktywności denitryfikacyjnej. W przypadku, gdy bakterie rozwijają się w naprzemiennych warunkach beztlenowo-tlenowych, aktywność denitryfikacyjna jest niska albo zerowa. Natomiast, gdy występują w warunkach beztlenowo-anoksydacyjnych (nigdy nie występują warunki tlenowe) ich aktywność denitryfikacyjna jest największa.

Badacze Jorgensena i Pauli potwierdzili słuszność drugiej teorii i udowodnili, że możliwe jest usuwanie ze ścieków azotu i fosforu przez te same bakterie. Na podstawie przeprowadzonych badań za najbardziej aktywne w usuwaniu fosforu bakterie denitryfikacyjne uznali bakterie z rodzaju *Pseudomonas*. Lacko i wsp. oraz Shi i Lee doszli do podobnych wniosków. Za najbardziej aktywne denitryfikujące bakterie defosfatacyjne uznali mikroorganizmy z rodzaju *Serratia* i *Vibrio*. Ponadto Shi i Lee wyizolowali i zidentyfikowali potencjalne dPAO: *Brachymonas sp.*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Ochrobactrum sp.* i *Paracoccus denitrificans*. Przeprowadzone badania przez Tsunedy i wsp. wykazały, że bakterie z rodzaju *Rhodocyclus* posiadają zdolność do atoksycznego poboru fosforu. Badacze wykorzystując techniki inżynierii genetycznej zidentyfikowali następujące szczepy bakterii

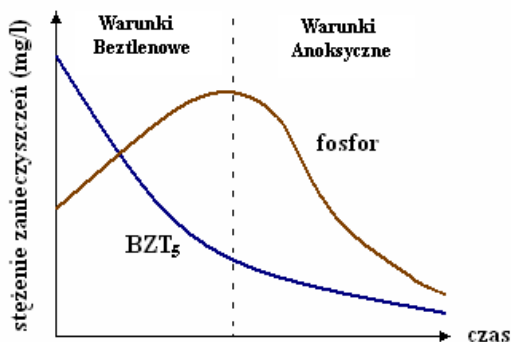
dPAO należące do rodzaju *Rhodocyclus*: *Thauera mechernichensis* i *Azoarcus toluitycus* [2].

Przeprowadzone badania przez Zeng i wsp. na dwóch reaktorach typu SBR pracujących w układzie beztlenowo-tlenowym (KB-KT) oraz beztlenowo-anoksyicznym (KB-KA) wykazały, że dominujące bakterie należą do rodzaju *Accumulibacter*. W reaktorze pracującym w układzie KB-KT *Accumulibacter* stanowiły 41% całej populacji bakterii, zaś w układzie KB-KA 38%. Podobne wyniki uzyskali Ahn i wsp. [4].

Jednakże izolacja czystych szczepów bakterii dPAO za pomocą metod hodowlanych często kończy się niepowodzeniem, albo wyizolowane z osadu czynnego kultury wykazują inne „zachowania” od obserwowanych w hodowlach mieszanych. Obiecujące wydają się metody analizy mikrobiologicznej oparte na biologii molekularnej, które umożliwiają badania i identyfikację bakterii bez konieczności ich izolacji. Ponadto, charakteryzują się one dużą czułością i powtarzalnością oraz nie są uzależnione od hodowli mikroorganizmów na podłożach mikrobiologicznych, co pozwala na przyspieszenie procedury badawczej [3].

## 2.1. PROCES DEFOSFATAcji DENITRYFIKACYJNEJ

Proces defosfatacji denitryfikacyjnej jest połączeniem dwóch powszechnie stosowanych i realizowanych w istniejących oczyszczalniach ścieków procesów: defosfatacji biologicznej i heterotroficznej denitryfikacji dysymilacyjnej. Proces defosfatacji denitryfikacyjnej prowadzony jest przez wyspecjalizowaną grupę mikroorganizmów tzw. bakterii dPAO stanowiącą część wszystkich bakterii zdolnych do nadmiernego gromadzenia fosforu wewnątrz komórek w postaci ziaren polifosforanowych. Proces defosfatacji denitryfikacyjnej prowadzony jest w naprzemiennych w runkach beztlenowo-anoksyicznych.



Rys. 1. Przebieg biologicznego usunięcia fosforu w wyniku nadmiernego pobierania [9]

W warunkach beztlenowych, jak wszystkie bakterie PAO, denitryfikujące bakterie defosfatacyjne magazynują wewnątrz swoich komórek łatwo przyswajalne związki organiczne w postaci polihydroksyalkanianów (PHA). Energię niezbędną do przeprowadzenia tego procesu czerpią z hydrolizy wewnątrzkomórkowych złogów polifosforanowych. W wyniku hydrolizy powstają ortofosforany, które następnie uwalniane są do ścieków, powodując wzrost ich stężenia (rys. 1). W fazie anoksydacyjnej bakterie dPAO utleniają zgromadzone związki organiczne (PHA) wykorzystując, jako akceptor elektronów azotany lub/i azotyny, które zredukowane są do azotu gazowego. Część wygenerowanej w procesie energii wykorzystywana jest do potrzymania procesów życiowych oraz do syntezy nowej biomasy. Natomiast uzyskany jej nadmiar zużywany jest na pobór fosforanów ze ścieków w celu odbudowy wewnątrzkomórkowych złogów polifosforanów, czemu towarzyszy spadek stężenia ortofosforanów w ściekach (rys.1). Podobnie jak w procesie wzmożonej biologicznej defosfatacji fosfor ostatecznie usuwany jest ze ścieków razem z osadem nadmiernym [1, 4, 5].

## 2.2. CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA PROCES DEFOSFATACJI DENITRYFIKACYJNEJ

Najważniejszymi parametrami ścieków wpływającymi na wydajność procesu defosfatacji denitryfikacyjnej są: pH, wiek osadu, stężenie azotanów, stosunek ilościowy: N:P i ChZT:N.

Wydajność usuwania fosforanów z komórek bakteryjnych w warunkach beztlenowych zwiększa się wraz ze wzrostem pH (Kuba i wsp.). Jednakże przy pH większym niż 8 następuje wytrącenie się osadu fosforanów. Za optymalne pH procesu defosfatacji denitryfikacyjnej przyjmuje się wartość 7–7,5 [2, 4, 8].

Kolejnym czynnikiem wpływającym na efektywność procesu jest wiek osadu, optymalna wartość tego parametru wynosi 14–15 dób. Badania przeprowadzone przez Penga i wsp. wykazały, że obniżenie wieku osadu do 7 dni skutkuje spadkiem wydajności procesu o ok. 21%.

Na jego wydajność wpływa również stężenie azotanów w warunkach anoksydacyjnych. Mimo, że azotany są niezbędne akceptorem elektronów w procesie defosfatacji denitryfikacyjnej ich nadmiar jest niewskazany. Badania przeprowadzone przez Kuba i wsp., wykazały, że za wysokie stężenie azotanów, na poziomie 5–10 mg N-NO<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> hamuje pobór fosforanów. Natomiast, Ahn i wsp. na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że nawet przy stężeniu 40 mgN-NO<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> akumulacja fosforanów następuje. Jednakże, nie określono jednoznacznie dolnej i górnej granicy stężenia azotanów w ściekach. Rozbieżności w wartości granicznego stężenia azotanów w ściekach wynikają z różnic w adaptacji osadu czynnego do azotanów. Ahn i wsp. prowadzili badania na osadzie pochodzącym z układu typu AO, w którym osad ma kontakt z azotanami, natomiast Kuba i wsp. pracowali na osadzie, który nie miał wcześniej styczności z tym związkiem [2].

Czynnikami determinującymi wysoką efektywność procesu jest stosunek ilościowy N:P, który w ściekach oczyszczanych wynosi 7 oraz ChZT:N równy 3,4 [3, 8].

Dodatkowo, zapewnianie naprzemiennych warunków beztlenowo-anoksydacyjnych sprzyja łatwieszemu namnażaniu się denitryfikujących bakterii defosfatacyjnych. W celu zmaksymalizowania wydajności procesu, w układach technologicznych pomiędzy komorą beztlenową a anoksydacyjną nie powinna występować komora tlenowa. W przypadku wystąpienia takiego układu, część zmagazynowanych w warunkach beztlenowych substancji zapasowych zostanie utleniona z wykorzystaniem tlenu jako akceptor elektronu, powodując tym samym zmniejszenie ilości wewnątrzkomórkowych substancji zapasowych niezbędnych do usunięcia fosforu w komorze anoksydacyjnej.

Ponadto, należy dążyć do tego, aby obecne w komorze beztlenowej łatwo rozkładalne substancje organiczne zostały całkowicie pobrane przez bakterie dPAO. W konsekwencji, występujące w komorze anoksydacyjnej azotany wykorzystane zostaną do utlenienia rozpuszczonych w ściekach łatwo rozkładanych związków organicznych, a nie do utleniania zmagazynowanych wewnątrz komórek substancji zapasowych (PHA), co spowoduje obniżenie intensywności procesu defosfatacji denitryfikacyjnej.

### 2.3. ZALETY I WADY PROCESU DEFOSFATACJI DENITRYFIKACYJNEJ

Główną zaletą procesu defosfatacji denitryfikacyjnej jest niski koszt jego prowadzenia w odniesieniu do metody usuwania fosforu w warunkach tlenowych. Korzyści wynikają ze znacznie niższego sumarycznego zapotrzebowania na związki węgla, mniejszego zużycia tlenu wykorzystywanego jedynie na potrzeby procesu nitrifikacji i akumulację pozostałych po fazie anoksydacyjnej ortofosforanów oraz mniejszej produkcji osadów, w porównaniu do tej obserwowanej przy usuwaniu biogenów przez dwie oddzielne grupy bakterii. Ponadto, w omawianym procesie azot i fosfor usuwane są ze ścieków przez jedną grupę bakterii przy jednorazowym wykorzystaniu związków organicznych. Mniejsze zapotrzebowanie na węgiel organiczny jest szczególnie istotny w przypadku ścieków o wysokim stężeniu związków biogenych w stosunku do węgla organicznego. W przypadku zbyt niskiego ładunku BZT<sub>5</sub> i ChZT w ściekach dopływających do oczyszczalni eliminuje to konieczność dawkowania zewnętrznego źródła węgla [2, 3, 5].

Jednakże, opracowanie procesu defosfatacji denitryfikacyjnej wiąże się również z kilkoma niedogodnościami technologicznymi. W porównaniu z defosfatacją prowadzoną w warunkach beztlenowo-tlenowych, proces defosfatacji denitryfikacyjnej charakteryzuje się mniejszą szybkością i wydajnością. Ponadto, problem z wdrożeniem procesu wiąże się z trudnymi do jednoczesnego spełniania czynnikami związanymi z odpowiednimi wartościami m. in.: odczynu, wieku osadu, stężenia azotanów oraz właściwym stosunkiem ilościowym N:P i ChZT:N. Parametry wpływające na proces

omówiono szerzej w rozdziale „Czynniki wpływające na proces defosfatacji denitryfikacyjnej”.

### 3. PODSUMOWANIE

Wprowadzenie i intensyfikacja procesu defosfatacji denitryfikacyjnej stanowi ciekawą alternatywę dla obniżenia kosztów usuwania fosforu ze ścieków w warunkach tlenowych czy poprzez chemiczne strącanie. Stworzenie odpowiednich warunków w powszechnie stosowanych układach technologicznych (A<sub>2</sub>O, UCT i MUTC) pozwoli na wykorzystanie zalet tego procesu. Potwierdziły to badania przeprowadzone m. in. przez Podedworną i wsp. Wyniki tych badań potwierdziły, że w układach technologicznych nieprojektowanych specjalnie do synergicznego usuwania biogenów występują bakterie dPAO, które na drodze defosfatacji denitryfikacyjnej usuwały ze ścieków część N i P. Badania prowadzono na osadach pochodzących z oczyszczalni ścieków pracujących w układach: A<sub>2</sub>O, Anox-O, Carrousel. We wszystkich osadach stwierdzono występowanie bakterii dPAO, a ich udział w biocenozie wahał się od 31,2 do 85,4% [5, 8].

Dlatego należy dążyć do lepszego poznania mechanizmu działania procesu defosfatacji denitryfikacyjnej oraz prowadzących go bakterii. Poprzez lepsze zrozumienie tego procesu możliwe będzie wprowadzenie rozwiązań do istniejących układów oczyszczania ścieków umożliwiających usuwanie azotu i części fosforu na drodze defosfatacji denitryfikacyjnej oraz w warunkach tlenowych.



**KAPITAŁ LUDZKI**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

**UNIA EUROPEJSKA**  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



*Zadanie współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.*

### LITERATURA

- [1] CARVALHO G., LEMOS C. P., OEHMEN A., REIS M. A. M., *Denitrifying phosphorus removal: Linking the process performance with the microbial community structure*. Water Research, 2007, Vol. 41, 4383–4396.
- [2] SCHINDLER, D.W., HECKY, R.E., FINDLAY, D.L., STANTON, M. P., HAIMING Z., XIWU L., ABUALHIL S., JING S., QIAN G., *Enrichment of PAO and dPAO responsible for phosphorus removal at low temperature*, Environment Protection Engineering, 2014, Vol.40, No.1,67–83.

- [3] MUSZYŃSKI A., MIELCZAREK A., HALKJAET NIELSEN P., *Techniki FISH i PCR w badaniach bakterii akumulujących polifosforany*, Gaz, Woda i Techniki Sanitarne, 2011, Vol. 6, No. 8, 189–193.
- [4] PODEDWORNA J., ZUBROWSKA-SUDOŁ M., *Nitrogen and phosphorus removal in a denitrifying phosphorus removal process in a sequencing batch reactor with a forced anoxic phase*, Environmental Technology, 2012, Vol. 33, No. 2, 237–245.
- [5] PODEDWORNA J., ZUBROWSKA-SUDOŁ M., SYTEK K., GAWROŃSKA K., PITKIEWICZ A., *Ocena aktywności denitryfikujących Bakterii Defosfatacyjnych w wybranych układach technologicznych z osadem czynnym*, Polska Inżynierii Środowiska Prace Tom1, pod red. M. R. Dudzińska, A Pawłowski, Komitet Inżynierii Środowiska PAN, Lublin 2012, 161–174.
- [6] SCHINDLER, D.W., HECKY, R.E., FINDLAY, D.L., STANTON, M. P., PARKER, B. R., PATERSON, M. J., BEATY, K. G., LYNG, M., AND KASIAN S. E. M., *Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment*. Proceedings of National Academy of Science, 2008, Vol. 32, No. 105, 11254–11258.
- [7] ZENG R. J., SAUNDERS A. M., YUAN Z., BLACKALL L., KELLER J., *Identification and Comparison of Aerobic and Denitrifying Polyphosphate-Accumulating Organisms*, Biotechnology And Bioengineering, 2002, Vol. 83, No. 2, 140–148.
- [8] ŻUBROWSKA-SUDOŁ M., CYGANECKA A., *Proces defosfatacji denitryfikacyjnej, jako alternatywna metoda usuwania ze ścieków związków biogenych*, Biotech., 2008, Vol. 1, No 80, 136–145.
- [9] [http://www.wiedzainfo.pl/biologiczne\\_metody\\_usuwania\\_zwiazkow\\_biogenych\\_ze\\_sciekow](http://www.wiedzainfo.pl/biologiczne_metody_usuwania_zwiazkow_biogenych_ze_sciekow).

#### THE DENITRIFYING PHOSPHORUS REMOVAL PROCESS

The Denitrifying Phosphorus Removal Process is an alternative to conventional chemical and biological methods for phosphorus removal. In this process, phosphorus and nitrogen are removed simultaneously by one group of heterotrophic microorganisms. The Phosphate Accumulating Microorganisms utilize nitrate or nitrite as an electron acceptor instead of oxygen.