

## **Biokémiai folyamatok populáció-dinamikai hatásai az eleveniszapos szennyvíztisztításban**

### **1. BEVEZETÉS, KUTATÁSI CÉL**

Az un. eleveniszapos szennyvíztisztítás világszerte a legelterjedtebb szennyvíztisztítási technológia, amelyben a szennyező anyagok biodegradációját ill. átalakulását egy pelyhekbe tömörült heterogén mikroflóra végzi. A heterogén mikroflóra szelekciós hatások sorozatának eredményeként alakul ki. A **bioreaktorban uralkodó körülményeknek megfelelően bizonyos mikroorganizmusok metabolikus előnyt élveznek** másokkal szemben. A mikrobiális populáció összetétele és az azt összetartó un. bakteriális extracelluláris poliszacharidok minősége alapvetően befolyásolja a bioreaktorban lejátszódó folyamatokat és az eleveniszap pehely szerkezetét és ennek megfelelően a szennyvíztisztítás hatékonyságát. A szelektáló tényezők közül a gyakorlatban mindmáig elsődlegesnek az adott szennyvíz minőségét tartják. Nemzetközi viszonylatban kevésbé kiaknázott az a lehetőség, ami a mikrobiális folyamatok kinetikai feltárásában és az ezeknek megfelelő bioreaktorok kialakításában rejlik.

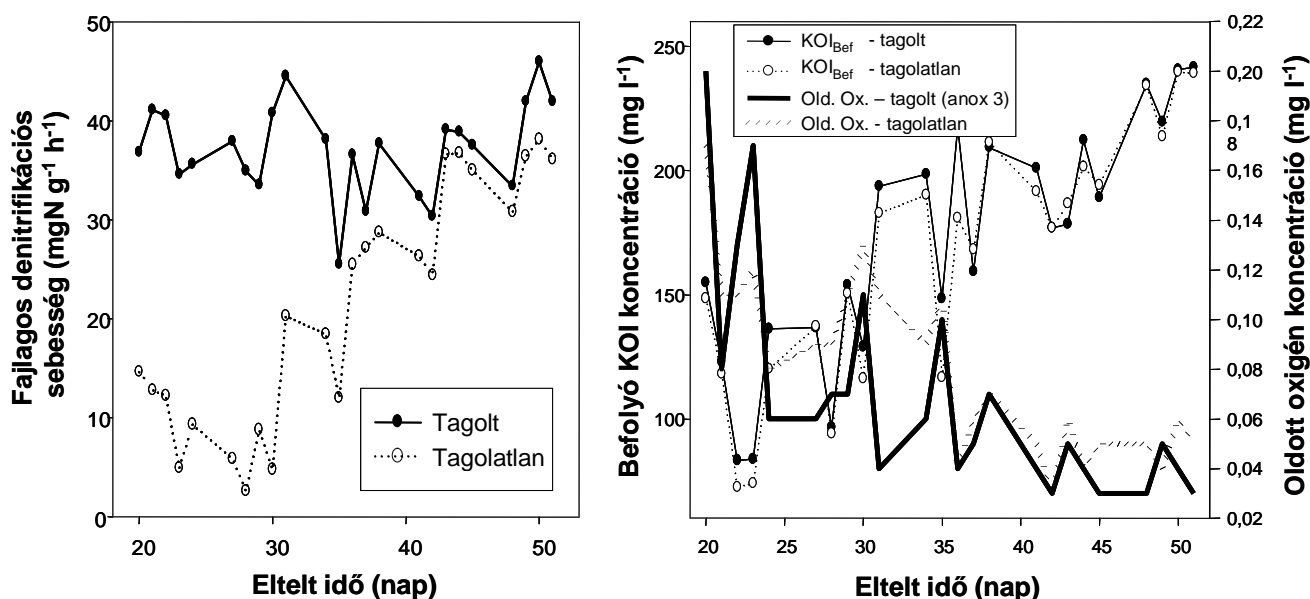
Hipotézisünknek megfelelően az eleveniszapos szennyvíztisztításban a biokémiai folyamatok populáció-dinamikai hatásainak ismeretében **a bioreaktorok megfelelő kialakításával a szennyező anyagok biodegradációját végző mikroorganizmusok számára olyan környezeti feltételek biztosíthatók, amelyek mellett az előnyben részesítendő baktériumok ill. folyamatok dominanciája elérhető.** Ebben a tekintetben a 70-es évek végén úttörő munkák születtek és saját kutatási eredményeink is hozzájárultak a nemzetközi tapasztalatok növekedéséhez. Mindezek ellenére a tanulmányozott területeken mindeztidáig nem áll rendelkezésre elegendő alapismeret ahhoz, hogy az eleveniszapos biológiai szennyvíztisztító rendszerek adott esetben optimális bioreaktor elrendezése kialakítható legyen. **Kutatásaink célja az egyes szelektáló hatások biokémiai alapjainak feltárása, ill. az ezek eredményeképpen kialakuló mikrobiális populáció dinamikájának vizsgálata volt.** A kapott eredményeket az alábbiakban foglaljuk össze.

## **2. NITRÁT ÉS OXIGÉN ELEKTRONAKCEPTOROK KOMPETÍCIÓS-INHIBÍCIÓS KINETIKÁJÁNAK VIZSGÁLATA**

Az oxigén és a nitrát az ún. fakultatívan aerob baktériumok esetében egyaránt szerepelhet terminális elektronakceptorként. A nagyobb felszabaduló energia következtében az oxigén redukciója metabolikus előnnyel jár. Kutatásaink arra irányultak, hogy az általánosan elterjedten alkalmazott **nyitott denitrifikációs reaktorokban milyen körülmények** – pl. eleveniszap-koncentráció, oldott oxigén koncentráció - **között alakul át a kompetíciós kinetika inhibíciós kinetikává és ezáltal hogyan csökken a nitrátfelhasználás hatékonysága.** (Jobbágy *et al.*, 2006a)

Először **szakaszos kísérletekben** tanulmányoztuk a denitrifikáció folyamatát a nitrát, nitrit és oldott oxigén koncentrációk mérésével. A kísérletekben különböző körülményeket (nyitott ill. a légkörtől elzárt ún. „No headspace” reaktor, különböző koncentrációjú, könnyen biodegradálható szubsztrát, stb.) alakítottunk ki és ezek között vizsgáltuk a nitrát és oxigén elektronakceptorok kompetíciós-inhibíciós kinetikáját, az oldott oxigén szint denitrifikációra gyakorolt hatását. Úgy találtuk, hogy **szüksős szénforrás mellett a nyitott reaktorokban** az oldott oxigénszint megemelkedik, ami a metabolikuson túlmenően **kinetikai gátlást** is kifejt.

Ezt követően, **a szakaszos kísérletek eredményeire alapozva folytonos üzemű összehasonlító modellkísérleteket végeztünk** el. A két kísérleti rendszer azonos ösztérfogatú denitrifikáló teret tartalmazott, az egyikben azonban ezt a reaktort 3, koncentrációgradienst eredményező térrészre tagoltuk. **A szennyvíz szervesanyag tartalmának változtatásával a nitrát és oxigén elektronakceptorként való felhasználásának kompetíciója is változott.** A kísérlet elején, **szüksős szénforráskínálat mellett a tagolatlan denitrifikáló reaktorban a magas oldott oxigén szint kinetikai gátlást gyakorolt a denitrifikációra, míg a tagolt reaktorban a kezdeti magasabb lokális szubsztrátkoncentráció és lebontási sebesség következtében a beoldódó oxigén alig befolyásolta a nitrát eliminációját.** A befolyó szennyvíz szervesanyag tartalmának növelésével a fajlagos denitrifikációs sebesség a tagolatlan rendszerben is megnőtt, ami azt bizonyította, hogy ilyen körülmények között az oxigén inhibáló hatása akár elhanyagolhatóvá is válhat.



1. ábra. Az elérhető szénforrás (KOI, kémiai oxigénigény) mennyisége, az anoxikus reaktorban mért oldott oxigénkoncentráció és a denitrifikációs sebesség összefüggései

A kapott eredmények a nemzetközi szakirodalomban fontos hiánypótlásnak tekinthetők, rámutatnak a **szennyvízösszetétel, mindenekelőtt a C:N arány figyelembevételének fontosságára** és egyben a gyakorlatban is közvetlenül felhasználható lehetőséget tárnak fel a denitrifikációs bioreaktorok költségkímélő hatékonyságnövelésére. (Jobbágy *et al.*, 2003)

Ugyancsak a szennyvíztisztítás nitrogén eltávolításának intenzifikálását célozta az a kutatásunk, melynek során **matematikai szimulációs modellt fejlesztettünk ki a kombinált eleveniszapos-bioszűrős nitrifikáló-denitrifikáló rendszerek leírására**. Ezáltal lehetőség nyílt arra, hogy a bioszűrőn és a recirkulációs áramok révén ezzel összekapcsolt eleveniszapos rendszerben lejátszódó folyamatok egymásra hatását tanulmányozhassuk. A modell segítségével megadható a bioszűrőn szaporodó és arról lemosott, nitrifikációt végző biomassza oltóhatása az eleveniszapos rendszerre. A kidolgozott modell alkalmasnak bizonyult a bioreaktor elrendezés, a recirkulációs áramok és egyéb üzemeltetési paraméterek (biomassza koncentráció, oldott oxigén koncentráció, stb.) hatásainak vizsgálatára és ezáltal a rendszer optimalizálására. A kidolgozott szimulációs modellt sikeresen illesztettük egy meglévő szennyvíztisztító telep (Délpesti Szennyvíztisztító Telep) és egy félüzemi, helyszíni

kísérlet különböző időszakokra vonatkozó üzemelési adataira. Az **illesztés alapján bebizonyítottuk, hogy az eleveniszapos rendszerben lejátszódó, intenzív nitrifikáció a bioszűrőről lemosott nitrifikáló mikroorganizmusok oltóhatása miatt következik be** az egyébként túlságosan alacsony biomassza tartózkodási idő ellenére. (Jobbágy *et al.*, 2004) Ilyen körülmények között az eleveniszapos rendszerben viszonylag nagyobb mennyiségben jelenlevő toxikus szubsztrátok mellett is fenntartható a biomassza nitrifikációs képessége.

### **3. A SZENNYVÍZÖSSZETÉTEL ÉS A KÖRNYEZETI PARAMÉTEREK BAKTERIÁLIS SZELEKCIÓRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK KUTATÁSA**

A különböző környezeti paraméterek – és ezek között kiemelt fontossággal a szennyvíz összetétel – az eleveniszap mikrobiális populációjának egyes tagjaira különböző hatást fejtenek ki. Ennek megfelelően, az általunk befolyásolható paraméterek adekvát megválasztásával lehetővé válik bizonyos típusú mikroorganizmusok szelekciója. Ebből a szempontból mindenekelőtt azt tanulmányoztuk, hogy **tápanyaghiányos (N- és P-hiányos) szennyvizek tisztítására hogyan használhatók fel a glikogénakkumuláló mikroorganizmusok (GAO-k)**, melyek szervezetükben többlet szén felhalmozására képesek, és feldúsításukra váltakozó anaerob és aerob körülmények között nyílik lehetőség.

Amennyiben a N és/vagy P szénforráshoz viszonyított aránya alacsony, a biológiai tisztító rendszerben túltermelődhet a mikroorganizmusokat összetartó ragasztóanyag. A bakteriális extracelluláris poliszacharidok képződésének körülményei és kinetikája kevésbé ismert terület. Ennek megfelelően, az általunk kidolgozott kimutatási módszert felhasználva a bakteriális extracelluláris poliszacharidok képződését is nyomonkövettük. Ettől elkülönítve ugyancsak vizsgáltuk a GAO-kra jellemző intracelluláris poliszacharidok mennyiségét.

Helyszíni koncentrációprofil mérések kiegészítéseképpen **szakaszos üzemű laboratóriumi kísérleteket hajtottunk végre borászati szennyvizet tisztító telep működésének vizsgálatára**. Ennek jellegzetessége az, hogy a befolyó szennyvíz magas széntartalommal, viszont igen kevés tápanyagtartalommal (N és P forrással) rendelkezik. A spontán kialakuló extracelluláris poliszacharidok túltermeléséből következő gátolt ülepedés (esetleg iszapelúszás) eliminálása céljából a nemzetközi gyakorlatban általánosan alkalmazott

módszer a kiegészítő tápanyag adagolás, ami nehezen szabályozható és növeli a kezelési költségeket. Kísérleti hipotézisünk az volt, hogy megfelelő reaktorelrendezés mellett a GAO-k elszaporíthatók, melyek a nagymennyiségű intracelluláris glikogén szintézise által csökkentik a relatív tápanyaghiányt az oldatban, és így a viszkózus iszappuffadás forrásának mennyiségét.

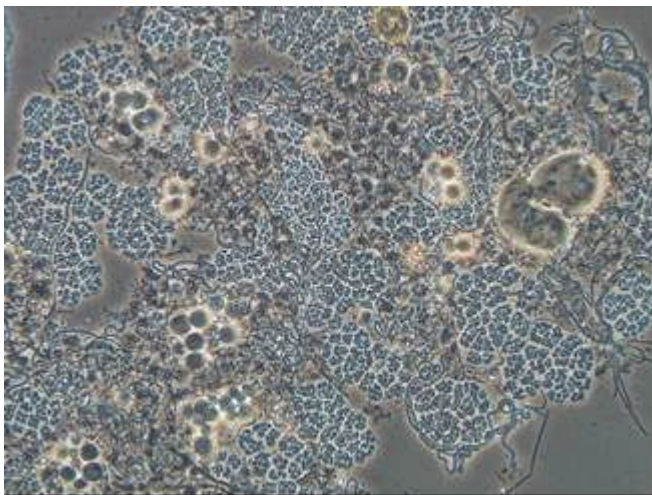
A GAO-k anaerob/aerob bioreaktor elrendezésű szennyvíztisztító rendszerben való jelenlétének igazolása érdekében **mikroszkópos vizsgálatokat végeztünk**, valamint **mértük az eleveniszap intra- és extracelluláris poliszacharid tartalmát** ill. az anaerob körülmények közti szubsztrát fogyást. E mellett vizsgáltuk az eleveniszap minőségét abból a szempontból, hogy milyen mennyiségben tartalmaz foszforakkumuláló (PAO) mikroorganizmusokat, melyek hasonló metabolizisuk miatt anaerob körülmények közt szintén fogyasztják a könnyen biodegradálható szénforrást és feldúsulnak az anaerob-aerob rendszerű eleveniszapos medencékben. Célunk volt továbbá annak a vizsgálata, hogy az eleveniszap képes-e hatékony denitrifikációra.

Az eleveniszap mintákat a boripari szennyvizet kezelő telep anaerob reaktorából vettük, majd, egy napon keresztül levegőztettük, és ezt követően töltöttük a kísérleti un. No head-space reaktorokba. Ily módon az iszap aerob-anaerob körülményeinek váltakozó periódusát fenntartottuk. A levegőztetési időszak előtt, alatt és után nyomonkövettük a jellemző analitikai paramétereket (nitrát, ortofoszfát, DOC- oldott szerves szén, TN és ecetsav koncentrációkat).

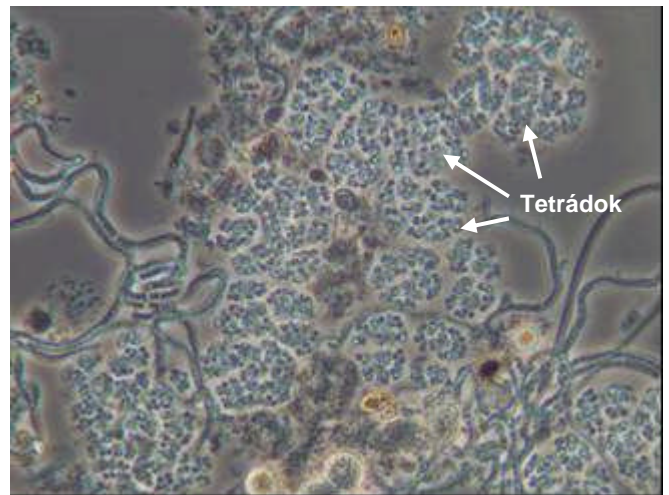
A szakaszos kísérlet során két „No head-space” reaktort működtettük egyidejűleg, egyikben anaerob, másikban nitrát hozzáadásával anoxikus körülményeket hozva létre. Az iszapkoncentrációt a reaktorokban azonos értékre (1,5 g/l) állítottuk be a telepről származó befolyó szennyvíz hozzáadásával, melynek analitikai paramétereit szintén megmértük. Mindkét reaktorba adagoltunk ecetsavat (100 mg/l), jól nyomonkövethető könnyen biodegradálható szénforrás gyanánt. Az anoxikus reaktorba annyi nitrátot adagoltunk, hogy a mennyisége ne válhasson limitálóvá (300 mg/l). A reaktorok lezárása után azonnal, majd 5, 10, 15 és végül 30 percenként vettünk mintát. Az első két kísérletsorozat mintavételezése 5 órás volt, amit később 8 órára növeltünk. A kísérlet során a hőmérséklet és a pH értékét nyomon követtük, de szabályozásukra nem volt szükség.

A kísérleti eredmények azt mutatták, hogy az eleveniszap kis mennyiségben foszforakkumuláló mikroorganizmusokat is tartalmaz, az általuk elfogyasztott szénforrás azonban elhanyagolhatónak bizonyult az összes fogyott szénforráshoz képest, ami a GAO-k dominanciájára utalt. Azt is megállapítottuk, hogy a vizsgált mikroflóra denitrifikációs képessége csekély, aminek következtében a nitrátos reaktorban fellépő denitrifikáció szénforrás igénye, a mindkét reaktorban tapasztalható foszforvisszanyomáshoz kapcsolódó szénforrás felvételével együttesen is csak kis hányadát tette ki a reaktorokban tapasztalt DOC fogyásnak. **A mérési eredmények tehát bizonyították a glikogénakkumuláló mikroorganizmusok nagy számú jelenlétét, amit egyébként a mikroszkópos vizsgálatok is kimutattak (ld. 2-3. ábra).**

A glikogénakkumuláló mikroorganizmusok jelenlétének igazolása érdekében az eleveniszap intra- és extracelluláris poliszacharid tartalmát is meghatároztuk. **A sejten belül mért poliszacharid sejten kívüli poliszacharidhoz képest tapasztalt magas aránya messzemenően alátámasztotta a GAO-k jelenlétét (ld. 4. ábra).**

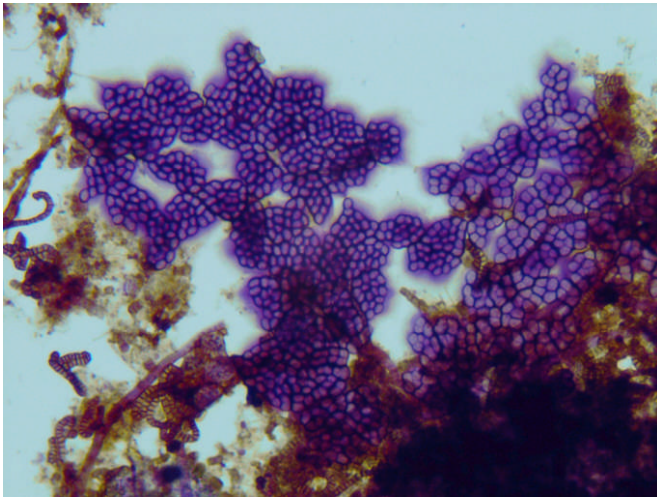


(a)

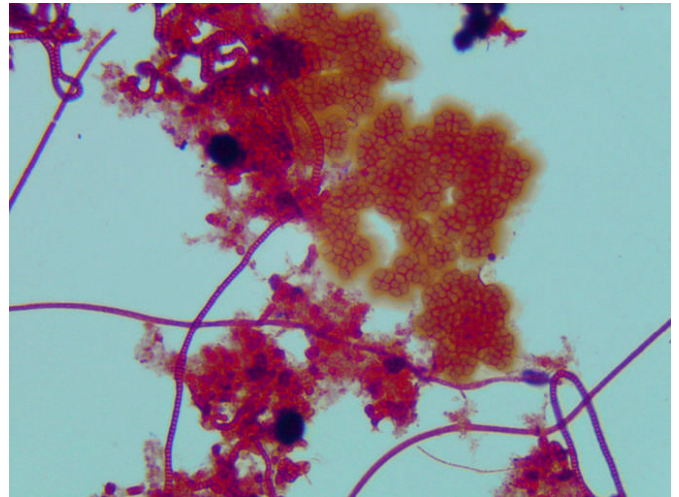


(b)

2. ábra. A tetrádos GAO-k dominanciájának szemléltetése az eleveniszapban  
(a) 400x, (b) 1000x nagyítású mikroszkópos képen

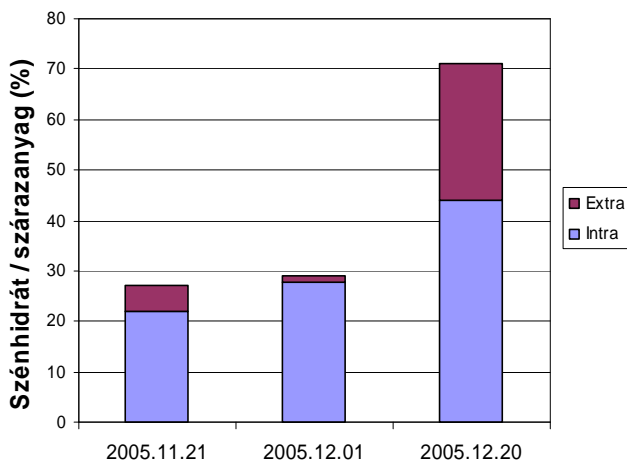


(a)

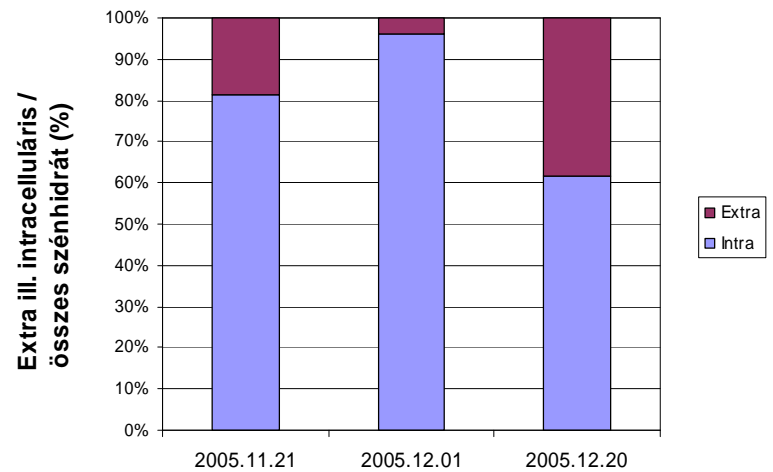


(b)

3. ábra. A GAO-k jelenlétének alátámasztása (a) Neisser ill. (b) Gram festéssel (1000x nagyítás, GAO-k Neisser festéssel lilán, Gram festéssel barnásan festődnek)



(a)



(b)

4. ábra. Az eleveniszap extra-és intracelluláris szénhidrát tartalmának megoszlása (a) a szárazanyagtartalom százalékában, (b) az összes szénhidrátban

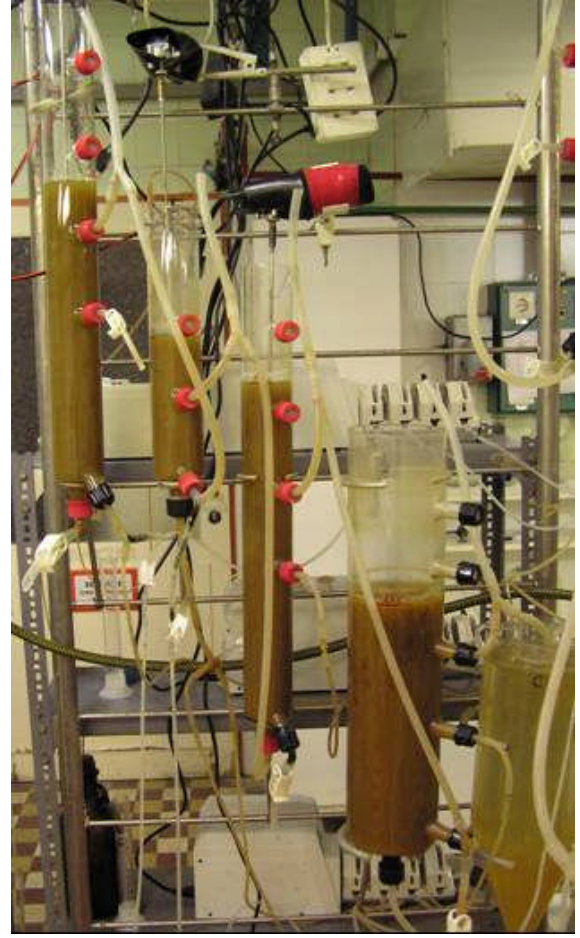
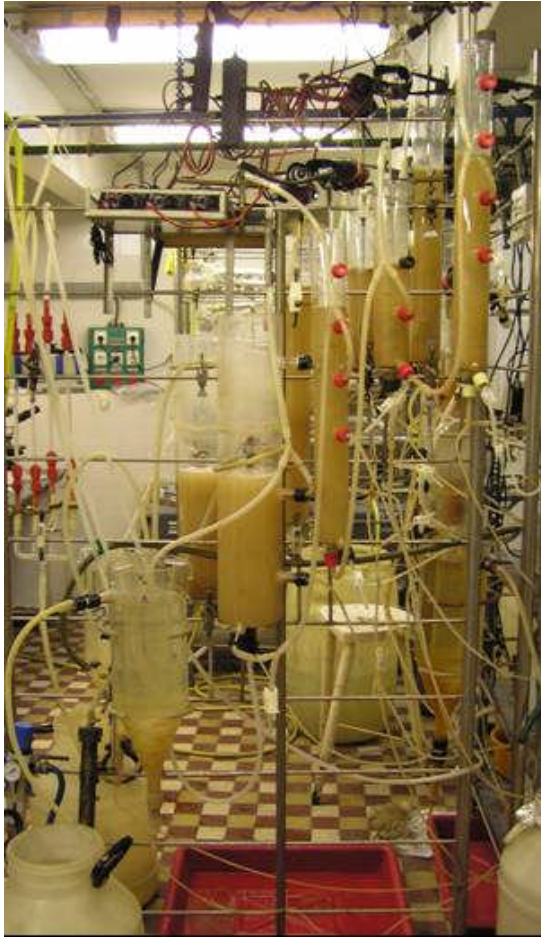
A glikogénakkumuláló mikroorganizmusok megjelenését egészen az általunk kidolgozott technológia megalkotásáig kizárólag kedvezőtlen jelenségként tartották számon. Ennek oka az, hogy **a GAO-k szelekciója és feldúsítása a biológiai szennyvíztisztító rendszerben fentiek szerint éppúgy anaerob/aerob bioreaktor elrendezést igényel, mint a foszforakkumuláló (PAO) szervezetek szaporítása.** Kutatásaink alapja mindvégig az a feltevés volt, hogy **a**

**kompetícióban a szennyvíz összetétele**, azaz a mikroorganizmusok környezetében uralkodó C:N és/vagy C:P arány **döntő szerepet játszik**. Ennek megfelelően azt tételeztük fel, hogy a biológiai foszforeltávolítás kiegészítéseképpen, a hatékonyság növelése érdekében alkalmazott vegyszeradagolás elvezethet a reaktorbeli P-koncentráció olyan mértékű lecsökkenéséhez, ami már a GAO-k növekedésének kedvez. Hipotézisünk alátámasztása érdekében mind **folytonos üzemű, félüzemi kísérletben**, mind **üzemi méretű rendszerben** vizsgáltuk a glikogénakkumuláló (GAO) és foszforakkumuláló (PAO) mikroorganizmusok kompetícióját, ami a biológiai foszforeltávolítás hatékonyságát meghatározza.

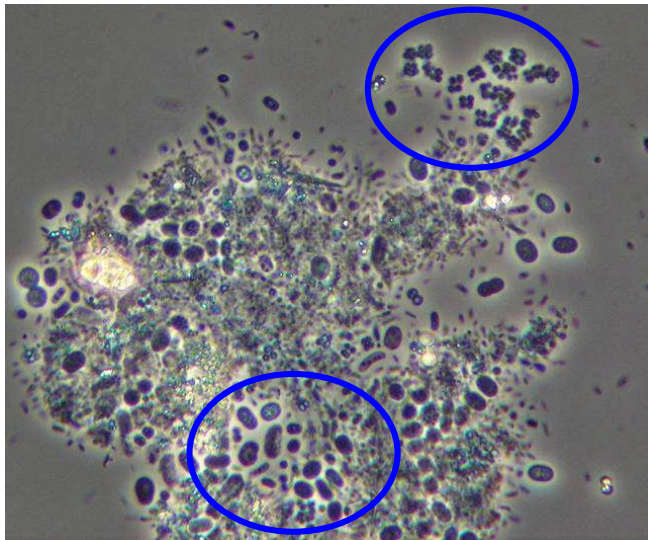
A laboratóriumi félüzemi kísérlet során három biológiai nitrogén- és foszforeltávolító eleveniszapos rendszert működtettünk egyidejűleg (ld. 5. ábra). Az egyik rendszer szolgált referenciaként, míg a másik kettőben kétféle vegyszer (vas(III)-klorid és nátrium-acetát) adagolásának hatását követtük nyomon, folyamatosan, 100 napon át. A nagyüzemi vizsgálatokat a Délpesti Szennyvíztisztító Telepen vett minták felhasználásával végeztük el, ahol vas(III)-szulfátot adagolnak a foszfor kémiai kicsapása érdekében. A kísérleti és üzemi eleveniszapok mikrobiális populációjának összetételét a kutatás keretében korábban kidolgozott mikroszkópos vizsgálati módszerekkel és külföldi kutatókkal együttműködésben végzett, speciális mikrobiológiai azonosítási módszerekkel (fluoreszcens *in situ* hibridizáció) vizsgáltuk. A **kísérlet részletes analitikai nyomkövetése** során, a hagyományos módszerek alkalmazása mellett kiemelt figyelmet fordítottunk az eleveniszap mikrobiális populációjának és jellemzőinek (extra- és intracelluláris poliszacharidok mennyisége, specifikus festődésű és morfológiájú mikroorganizmusok mikroszkópos képe) tanulmányozására.

A nagyüzemi rendszer eleveniszapjában kimutattuk a GAO-k jelenlétét és feltételeztük, hogy ezen mikroorganizmusok elszaporodása a vas-só túladagolása miatt kialakuló bioreaktorbeli foszforhiány következménye. A 6(a). ábrán bemutatott mikroszkópos képen megfigyelhető a GAO-k egy csoportjának jellegzetes tetrádos morfológiája, valamint egy másik GAO fajtának nagyméretű, ovális sejtjei. A 6(b). ábrán egy jól definiált GAO fajta, az un. G-baktérium sejtjei tűnnek fel sárga színben, ami a specifikus, nukleinsav sorrenden alapuló kimutatás által egyértelműen bizonyítja jelenlétüket a Délpesti Szennyvíztisztító Telep eleveniszapjában.

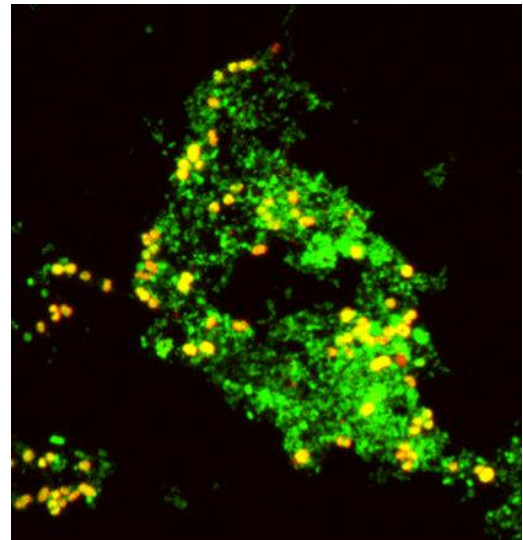




5. ábra. A kísérleti berendezések képe



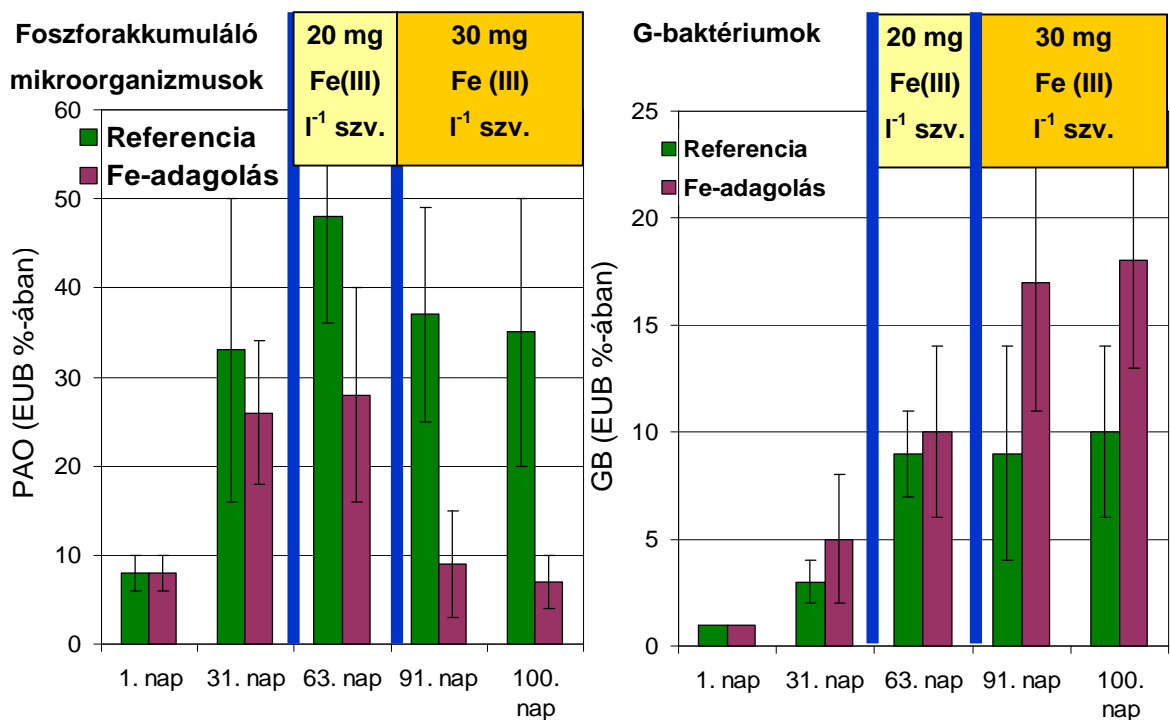
(a)



(b)

6. ábra. A Délpesti Szennyvíztisztító Telep eleveniszapjában jelenlevő GAO-k  
(a) tetrádok és 3-4  $\mu\text{m}$ -es ovális sejtek a natív mintában, (b) sárga G-baktérium sejtek fluoreszcens *in situ* hibridizációs módszerrel vizsgált mintában

A félüzemi modellkísérlet során kapott eredményeket mutatja be a 7. ábra, amelyen a fluoreszcens *in situ* hibridizációs módszerrel meghatározott mikroorganizmus fajták (a foszforakkumuláló mikroorganizmusok és a G-baktériumok) mennyiségét tüntették fel. A kezdeti időszak kivételével a referencia rendszer eleveniszapjában mindkét baktériumfajta gyakorisága közel állandónak adódott (~35 % PAO és 9 % G-baktérium). Ezzel szemben a vas(III)-klorid adagolásával üzemeltetett rendszerben az adagolás megkezdését és növelését követően a foszforakkumuláló mikroorganizmusok mennyisége 10 % alá csökkent, míg a GAO-k aránya szignifikánsan, 16 % fölé emelkedett.



7. ábra. A foszforakkumuláló és glikogénakkumuláló (G-baktériumok) mikroorganizmusok mennyiségének alakulása a modellkísérlet során a referencia és a Fe(III)-adagolással üzemelő kísérleti rendszerek eleveniszapjában

A mérési eredmények igazolták azt, hogy a **biológiai foszforeltávolítás kiegészítéseképpen alkalmazott vegyszeradagolás (Vas(III)-klorid) következtében olyan alacsony ortofoszfát koncentráció alakulhat ki az eleveniszapos medencékben, ami elősegíti a glikogénakkumuláló mikroorganizmusok elszaporodását** és egyben a biológiai foszforeltávolítás hatékonyságának csökkenéséhez vezet el. (Jobbágy *et al*, 2006b)

## REFERENCIÁK

Jobbágy, A., Kiss. B. (2006a) A biológiai nitrogéneltávolítás problémái és lehetőségei, *Vízmű Panoráma*, XIV/1. 7-11.

Jobbágy A., Literáthy B., Wong M-T., Tardy G., Liu W-T. (2006b) Proliferation of Glycogen Accumulating Organisms Induced by Fe(III) Dosing in a Domestic Wastewater Treatment Plant, *Water Science and Technology*, közlésre elfogadva.

Jobbágy A., Plósz B. (2003) Impact of Low-Rate Substrate Removal on the Performance of Denitrifying Systems, *Periodica Polytechnica Ser. Chem. Eng.* **47** (2), 97-104.

Jobbágy A., Tardy G.M., Literáthy B. (2004) Enhanced Nitrogen Removal in the Combined Activated Sludge-Biofilter System of the Southpest Wastewater Treatment Plant, *Water Science and Technology* **50** (7), 1-8.