

Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.  
**Seminarium naukowo-techniczne pt.**

**Perspektywy stosowania alternatywnych  
źródeł węgla  
w oczyszczalniach ścieków**



w ramach projektu „Innowacyjne źródło węgla dla wspomagania  
denitryfikacji w komunalnych oczyszczalniach ścieków”  
współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju  
Regionalnego - Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka  
(Poddziałanie 1.3.1)



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

**Członkowie zespołu badawczego**



dr inż.  
Aneta Łuczkiewicz



mgr inż.  
Przemysław Kowal



dr inż.  
Eliza Kulbat



dr Katarzyna Jankowska



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

**Podsumowanie wyników mikrobiologicznych  
badań osadu czynnego**



Katedra Technologii Wody i Ścieków  
Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska  
Politechnika Gdańska



Katedra Biotechnologii  
w Ochronie Środowiska  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Katedra Technologii Wody i Ścieków  
Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska  
Politechnika Gdańska  
Laboratorium Biotechnologii Środowiska  
Pracownia Mikrobiologiczna



---

---

---

---

---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Katedra Biotechnologii  
w Ochronie Środowiska  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski



---

---

---

---

---

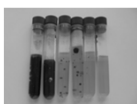
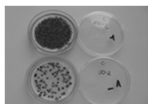
---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Techniki tradycyjne hodowlane



Phoenix System  
(BD Biosciences, USA),

biochemiczna identyfikacja  
i ocena antybiotykooporności  
szczepów bakteryjnych



---

---

---

---

---

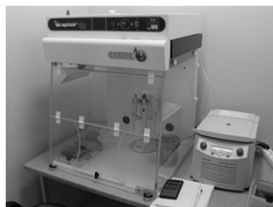
---

---

---

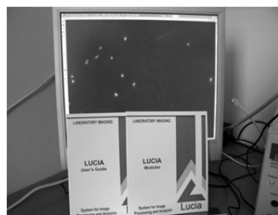
Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Katedra Biotechnologii  
w Ochronie Środowiska  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski  
Techniki biologii molekularnej



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Katedra Technologii Wody i Ścieków  
Laboratorium Biotechnologii Środowiska  
Pracownia Mikrobiologiczna  
Metody mikroskopowe



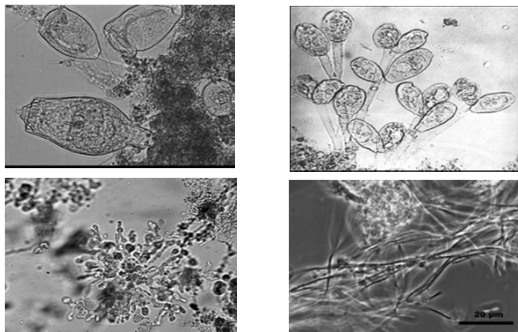
Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Techniki tradycyjne  
(obserwacje w mikroskopie jasnego pola i techniki hodowlane)  
pozwoliły na opracowanie modelowego zespołu mikroorganizmów.

Jednak ten opis okazał się nieadekwatny do dynamiki metabolizmu  
zespołu mikroorganizmów występujących w oczyszczalniach



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

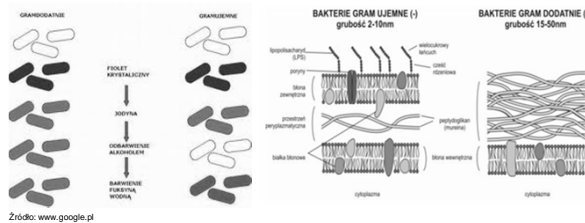


INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Barwienie metodą Grama – różnice w budowie ściany komórkowej



Źródło: www.google.pl

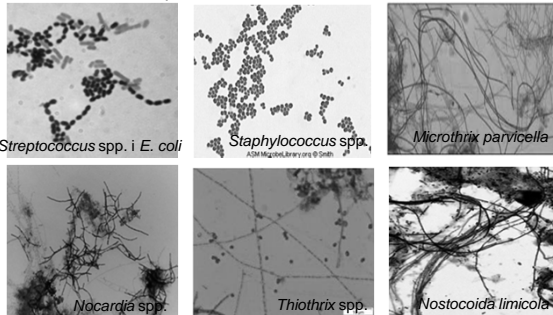
bakterie barwiące się  
na kolor ciemnofioletowy, prawie czarny, określamy jako Gram-dodatnie lub (Gram +),  
bakterie odbarwiające się na kolor czerwony, określamy jako Gram-ujemne lub (Gram -),

INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

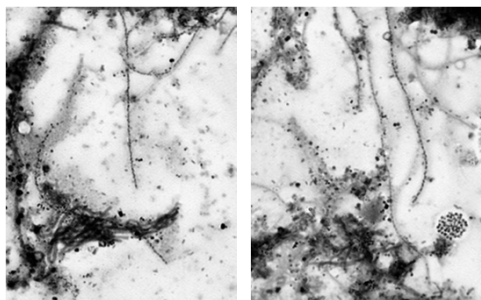
Barwienie metodą Grama



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

Barwienie metodą Neissera – wykrywanie materiałów zapasowych (polifosforanów)



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



grupa organizmów	procent poznanych gatunków
bakterie	<0,5%
grzyby	4,8 %
glony	10 %
rośliny	84 %
owady	12 %
kręgowce	90 %

Źródło:  
Editor of Nature  
Microbial Reviews,  
lipiec 2010.

środowisko	procent gatunków bakterii identyfikowalnych metodą hodowlaną
wody morskie	0,001 – 0,1 %
wody słodkie	0,25 %
osad czynny	1 - 15 %
gleba	0,3 %



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Znajomość ekologii zespołu mikroorganizmów jest konieczna  
do wyjaśnienia czynników wpływających na efektywność i stabilność  
biocenozy biologicznej oczyszczalni ścieków  
oraz do rozwoju strategii umożliwiających  
właściwe wykorzystanie procesów technologicznych.



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Wprowadzenie w latach 90-tych technik molekularnych umożliwiło określenie składu oraz dynamiki metabolicznej zespołu mikroorganizmów występujących w osadzie czynnym.

Nie bez znaczenia jest również możliwość analizy roli kluczowych dominantów, prowadzących różne typy procesów metabolicznych.

Techniki hodowlane wskazywały na dominację w osadzie czynnym bakterii należących do *Gamaproteobakterii*, stosunkowo rzadko izolowano bakterie należące do *Betaproteobakterii* (*Acidovorax*, *Alicycigenes* i *Comamonas*), a pojedyncze izolaty z grupy Gramododatnich należały do *Arthrobacter*, *Microbacterium* i *Mycobacterium*.

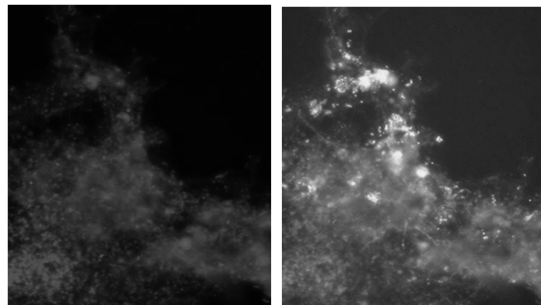
Stosowane obecnie analizy wykorzystujące techniki molekularne wykazują natomiast, iż w osadzie czynnym dominują bakterie należące do *Betaproteobakterii*

Ogólna liczba bakterii w osadzie szacowana jest od  $10^9/\text{cm}^3$  do  $10^{10}/\text{cm}^3$ , z czego 80 % to komórki aktywne.

Frakcja mikroorganizmów stanowi 5-20 % kłaczków, reszta to substancje koloidalne

Źródło: Limpiyakorn et al., Quantification of ammonia-oxidizing bacteria populations in full-scale sewage activated sludge systems and assessment of system variables affecting their performance. *Water Sci Technol.* 2006;54(1):91-99.

Określenie aktywności metabolicznej komórek bakteryjnych



---

---

---

---

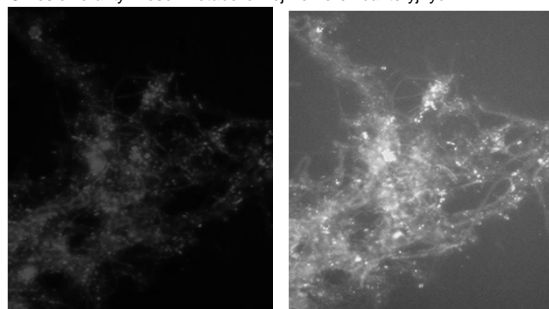
---

---

---

---

Określenie aktywności metabolicznej komórek bakteryjnych



---

---

---

---

---

---

---

---

Analiza bakterii funkcyjnych

Kumar et al. BMC Bioinformatics 2006 7:240 doi:10.1186/1471-2105-7-240



---

---

---

---

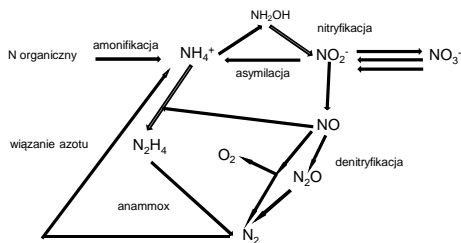
---

---

---

---

## Przemiany azotu



źródło Hantke i Strous, 2010.

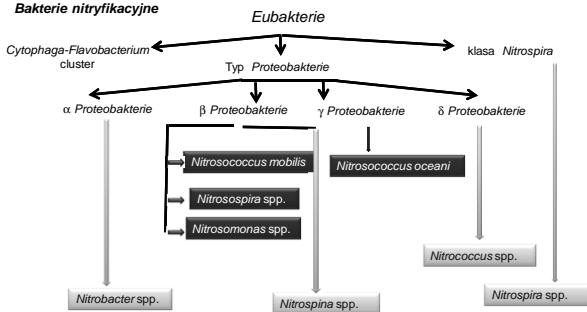


INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA (NATIONAL INNOVATIVE ECONOMY)

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



## Bakterie nitryfikacyjne



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA (NATIONAL INNOVATIVE ECONOMY)

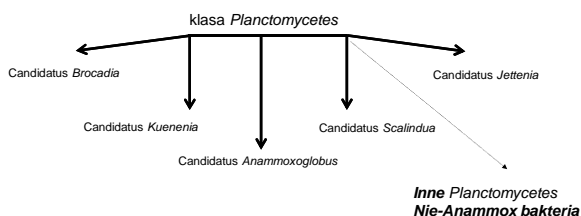
utleniające amoniak

utleniające azotyny

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



## Bakterie Anammox



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA (NATIONAL INNOVATIVE ECONOMY)

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO








---

---

---

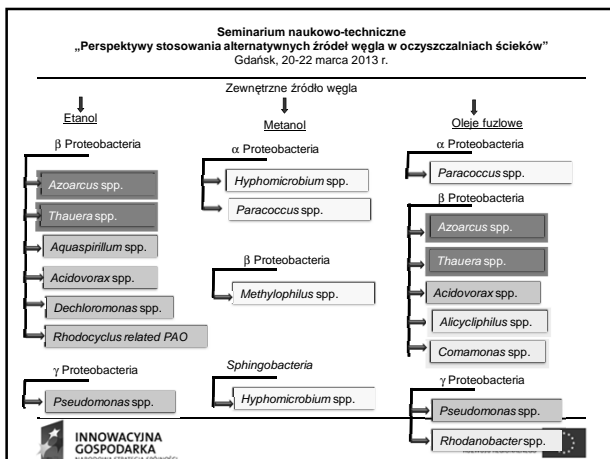
---

---

---

---

---




---

---

---

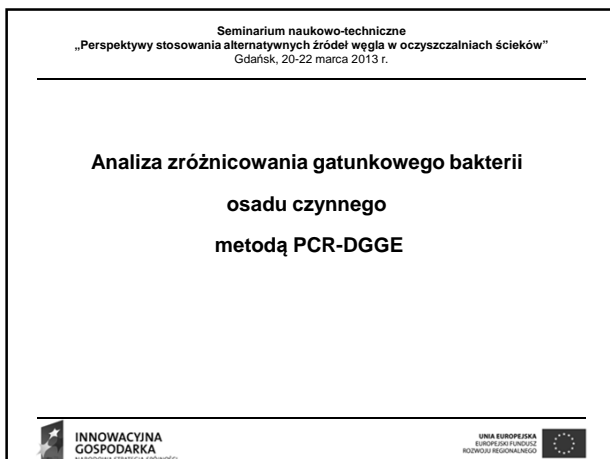
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

IZOLACJA GENOMOWEGO DNA

PCR (amplifikacja wybranych segmentów DNA)

DGGE (elektroforeza w gradiencji czynnika denaturującego)

Źródło: www.google.pl

INNOWACYJNA GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Źródło: www.google.pl

INNOWACYJNA GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

**Sekwencjonowanie**

- kolejności par nukleotydowych w cząsteczce DNA

Źródło: www.google.pl

INNOWACYJNA GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

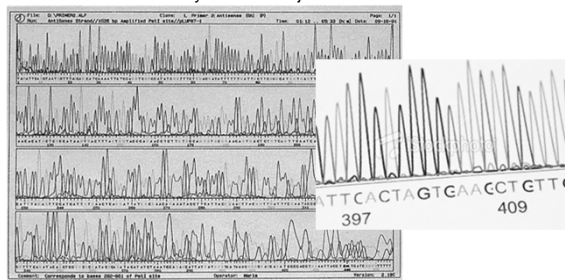
---

---

---

---

#### Wyniki sekwencjonowania



Źródło: www.google.pl




---

---

---

---

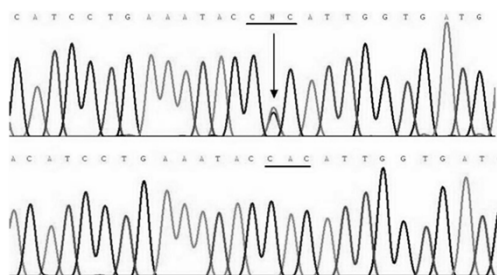
---

---

---

---

#### Porównywanie sekwencji



Źródło: www.google.pl




---

---

---

---

---

---

---

---

#### Metody mikroskopowe




---

---

---

---

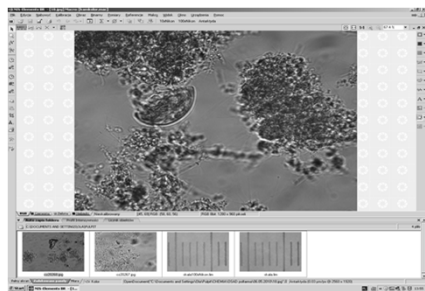
---

---

---

---

#### Komputerowa analiza obrazu – NIS Elements



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI

$\alpha = 365 \text{ nm}$

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

#### Barwienie DAPI

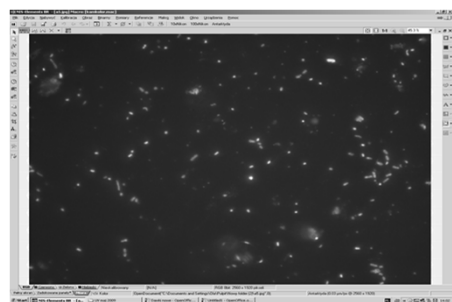
DAPI (4',6-diamidyno-2-fenylindol)

- barwnik nieaktywny fluorescencyjnie
- selektywnie wiąże się z DNA komórek bakteryjnych, tworząc kompleksy fluoryzujące
- określenie liczebności i biomasy komórek bakteryjnych

INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

#### Barwienie DAPI



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI

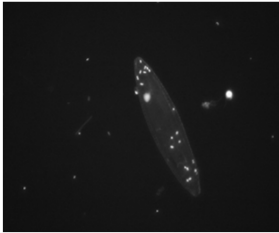
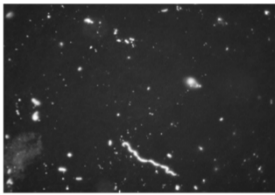
$\alpha = 365 \text{ nm}$


UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

---


Barwienie DAPI



**INNOWACYJNA  
GOSPODARKA**

NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

---

---

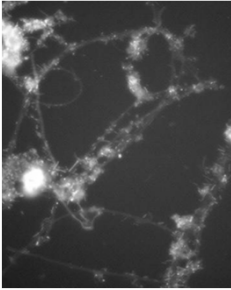
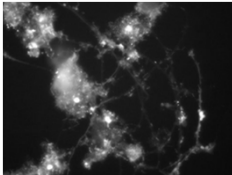
---

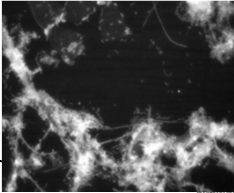
---


Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

---


Barwienie DAPI






PROJEKTA  
KULTURALNEGO  
ROZWOJU REGIONALNEGO



**INNOWACYJNA  
GOSPODARKA**

NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

---

---

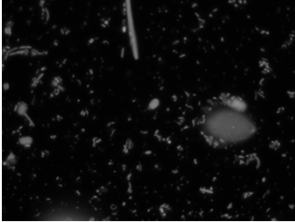
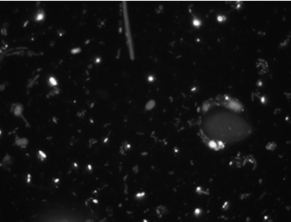
---

---


Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

---

**Określenie aktywności metabolicznej komórek bakteryjnych  
barwienie BacLight viability kit staining (Live/Dead -L/D))**





Fluoroforowe barwniki: SYTO 9 i jodek propidyny



**INNOWACYJNA  
GOSPODARKA**

NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

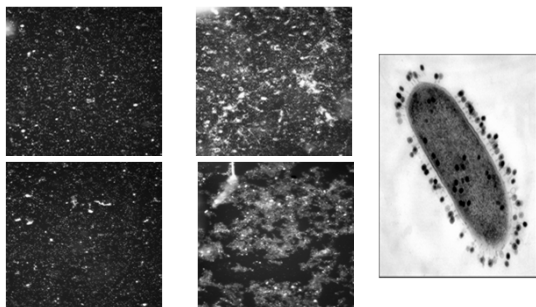
---

---

---

---

#### Barwienie cząstek wirusowych (Sybr Gold II)



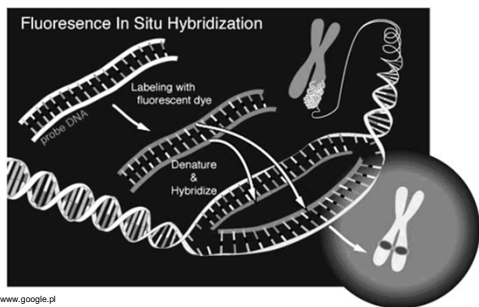
#### Fluorescencyjna Hybrydyzacja In Situ (FISH)

technika służąca do wykrywania określonej sekwencji DNA za pomocą komplementarnych sond znakowanych fluorochromami.

Pozwala na detekcję wybranych grup, rodzajów, a nawet gatunków bakterii osadu czynnego

#### Popularne znaczniki fluorescencyjne:

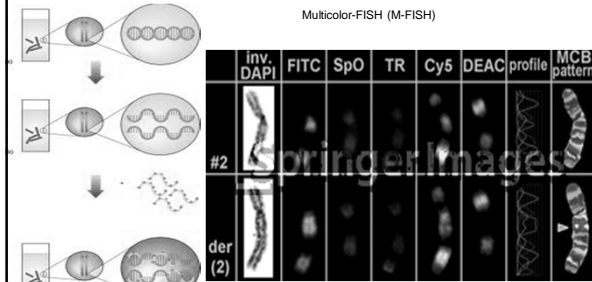
Znacznik	maksymalne wzbudzenie / emisja (długości fali)	Kolor
Cy3	552 nm / 565 nm	Czerwony
Cy5	649 nm / 670 nm	Niebieski
FLUOS	494 nm / 523 nm	Zielony
DAPI	365 nm / 456 nm	Niebieski
SYBR Green	494 nm / 520 nm	Zielony



Źródło: www.google.pl



Multicolor-FISH (M-FISH)

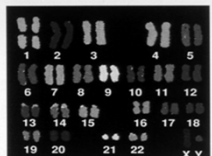


Źródło: www.google.pl

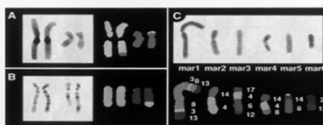


- ☐ do ustalania lokalizacji poszczególnych genów,
- w badaniach dot. aberracji chromosomowych (w tym nadania prenatalne)
- w badaniach dot. ustalenie pokrewieństwa,
- ☐ w badaniach onkologicznych w diagnostyce chorób nowotworowych

SPECTRAL KARYOTYPING



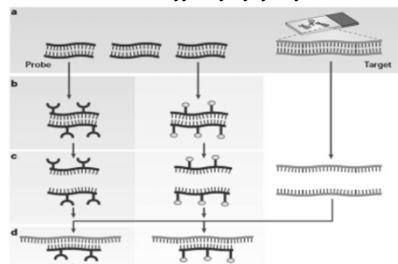
Normal Human Chromosomes



Chromosomes from Human Cancers



### Fluorescencyjna Hybrydizacja In Situ

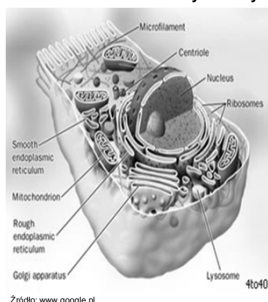


Źródło: Amann R. i wsp. Max Planck Institute for Marine Microbiology, Bremen

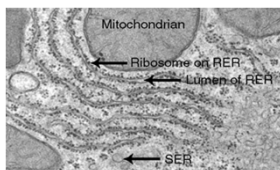
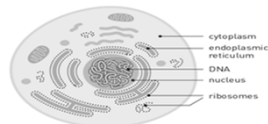
INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACYJNA

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

### Rybosomy

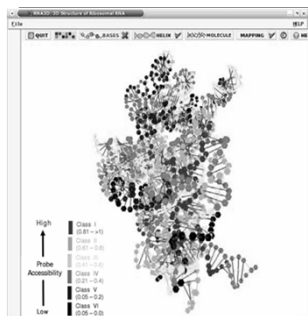


Źródło: www.google.pl



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACYJNA

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Kumar et al. BMC Bioinformatics 2006 7:240 doi:10.1186/1471-2105-7-240

INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACYJNA

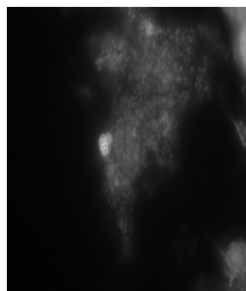
### Rybosomy Struktura kwasów nukleinowych



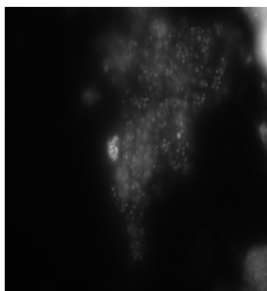
UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Kłaczek osadu czynnego barwiony DAPI



Bakterie PAO w kłaczu osadu czynnego



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

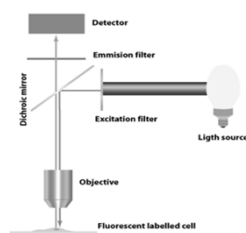
---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Źródło: www.google.pl

Mikroskop fluorescencyjny



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

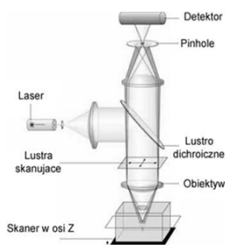
---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Źródło: www.google.pl

Mikroskop konfokalny



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

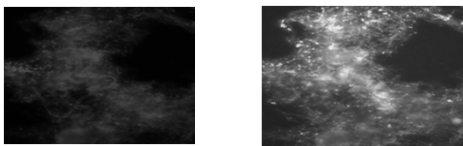
---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



mikroskop fluorescencyjny



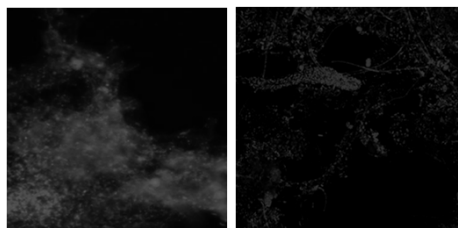
skaningowy mikroskop konfokalny



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

Eubakterie  
w kłaczkach  
osadu czynnego



obraz w mikroskopie:

fluorescencyjnym

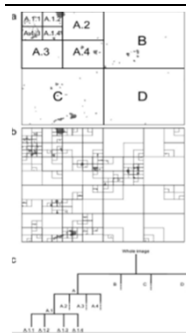
konfokalnym



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

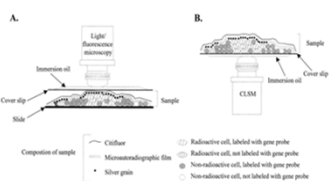
UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Analiza ilościowa obrazu mikroskopowego  
wykorzystanie skaningowego mikroskopu  
konfokalnego

Daims H. & Wagner M., Appl Microbiol Biotechnol, 2007



INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

Źródło: www.google.pl

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

## Wyniki badań mikrobiologicznych

### Eksperymenty w skali laboratoryjnej

Wykonano dwie serie badań.  
Dla każdej serii badania prowadzono w dwóch, niezależnych od siebie reaktorach typu SBR zaszczepionych tym samym osadem czynnym pochodzącym z oczyszczalni ścieków Gdańsk - Wschód.

W pierwszej serii badano wpływ dodatku metanolu (reaktor 1) oraz olei fuzytowych (reaktor 2).

W serii drugiej badano wpływ dodatku fuzli (reaktor 1) oraz fuzli skażonych (reaktor 2).



sonda	grupa bakterii	sekwencja 5' – 3'	stężenie FA
EUB mix (EUB338, EUB338II, EUB338III)	Most Bacteria, <i>Planctomycetales</i> and <i>Verrucomicrobiales</i>	GCT GCC TCC CGT AGG AGT + GCA GCC ACC CGT AGG TGT + GCT GCC ACC CGT AGG TGT	0-60
AC1208	<i>Acidovorax</i> spp.	CGC GCA AGG CCT TGC	20
AZO644*	Most members of the <i>Azoarcus</i> cluster	GCC GTA CTC TAG CCG TGC	20
Curvi997 (dawniej Aqs997)	Curvibacter <i>Aquaspirillum</i> - bakteria	CTC TGG TAA CTT CCG TAC CTC TGG CAA CTT CCG TAC, CTC TGG TCA CTT CCG TAC	35
Pae997	Most true <i>Pseudomonas</i>	GCT GGC CTA GCC TCC	0
Thau646	<i>Thauera</i>	TCT GCC GTA CTC TAG CCT T	45

**Seminarium naukowo-techniczne**  
**„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”**  
 Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

data poboru próbki	godzina	oznaczenie	rodzaj dodatku ZŻC	data poboru próbki	godzina	oznaczenie	rodzaj dodatku ZŻC
Reaktor I				Reaktor II			
15.04.2010	21 <sup>00</sup>	1M	BRAK	15.04.2010	21 <sup>00</sup>	160F	BRAK
16.04.2010	20 <sup>00</sup>	2M	Metanol	16.04.2010	20 <sup>00</sup>	170F	olej fuzytowy
19.04.2010	09 <sup>00</sup>	3M	Metanol	19.04.2010	09 <sup>00</sup>	180F	olej fuzytowy
19.04.2010	20 <sup>00</sup>	4M	Metanol	19.04.2010	20 <sup>00</sup>	190F	olej fuzytowy
23.04.2010	09 <sup>00</sup>	5M	Metanol	23.04.2010	09 <sup>00</sup>	210F	olej fuzytowy
				23.04.2010	20 <sup>00</sup>	200F	olej fuzytowy
				29.04.2010	20 <sup>00</sup>	220F	olej fuzytowy



**INNOWACYJNA GOSPODARKA**  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI



UNIA EUROPEJSKA EUROPEJSKI FUNDUSZ ROZWOJU REGIONALNEGO

**Seminarium naukowo-techniczne**  
**„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”**  
 Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Data poboru próbki	godzina	oznaczenie	rodzaj dodatku ZŻC	data poboru próbki	godzina	oznaczenie	rodzaj dodatku ZŻC
Reaktor I				Reaktor II			
25.05.2010	21 <sup>00</sup>	6F	BRAK	25.05.2010	21 <sup>00</sup>	23FS	BRAK
07.06.2010	21 <sup>00</sup>	7F	Fuzie	07.06.2010	21 <sup>00</sup>	24FS	Fuzie słabosne
08.06.2010	09 <sup>00</sup>	8F	Fuzie	08.06.2010	09 <sup>00</sup>	25FS	Fuzie słabosne
08.06.2010	20 <sup>00</sup>	9F	Fuzie	08.06.2010	20 <sup>00</sup>	2FS	Fuzie słabosne
15.06.2010	09 <sup>00</sup>	10F	Fuzie	15.06.2010	09 <sup>00</sup>	27FS	Fuzie słabosne
15.06.2010	20 <sup>00</sup>	11F	Fuzie	15.06.2010	20 <sup>00</sup>	28FS	Fuzie słabosne
18.06.2010	21 <sup>00</sup>	12F	Fuzie	18.06.2010	21 <sup>00</sup>	29FS	Fuzie słabosne
22.06.2010	09 <sup>00</sup>	13F	Fuzie	22.06.2010	09 <sup>00</sup>	30FS	Fuzie słabosne
22.06.2010	20 <sup>00</sup>	14F	Fuzie	22.06.2010	20 <sup>00</sup>	31FS	Fuzie słabosne
25.06.2010	20 <sup>00</sup>	15F	Fuzie	25.06.2010	20 <sup>00</sup>	32FS	Fuzie słabosne



**INNOWACYJNA GOSPODARKA**  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI



UNIA EUROPEJSKA EUROPEJSKI FUNDUSZ ROZWOJU REGIONALNEGO

**Seminarium naukowo-techniczne**  
**„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”**  
 Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

**Badania w skali pełnoteknicznej**  
 przeprowadzone zostały w Lewobrzeżnej  
 Oczyszczalni Ścieków w Poznaniu



**INNOWACYJNA GOSPODARKA**  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI

UNIA EUROPEJSKA EUROPEJSKI FUNDUSZ ROZWOJU REGIONALNEGO

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

Eksperyment prowadzono w układzie dwóch przepływowych reaktorów. Do pierwszego (R2) dozowano do ciągu badawczego – Bioreaktora 05.1 olej fuzlowy, jako zewnętrzne źródło węgla organicznego, w objętości ok. 400 dm<sup>3</sup>/d.

Drugi (R1) stanowił kontrolę bez dodatku zewnętrznego źródła węgla. Obydwa reaktory zasilane były jednakowym rodzajem ścieków bytowo-gospodarczych.

Próbki pobierano z ciągu referencyjnego - Bioreaktora 05.4 - bez dodatku zewnętrznego źródła węgla (R2) oraz z reaktora biologicznego z dodatkiem zewnętrznego źródła węgla (R1),

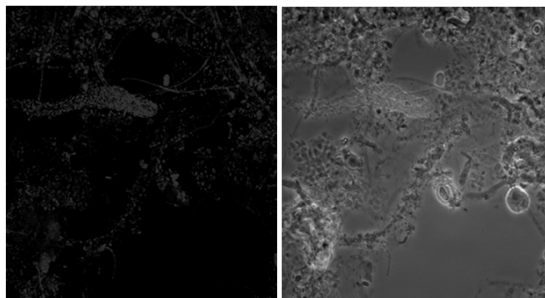


Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.

data poboru próbki	oznaczenie	rodzaj dodatku ZŻC	data poboru próbki	oznaczenie	rodzaj dodatku ZŻC
Reaktor I			Reaktor II		
28.03.2012	1.3	BRAK	28.03.2012	12.3	oleje fuzlowe
18.04.2012	2.3	BRAK	18.04.2012	11.3	oleje fuzlowe
09.05.2012	3.3	BRAK	09.05.2012	10.3	oleje fuzlowe
03.06.2012	4.3	BRAK	03.06.2012	9.3	oleje fuzlowe



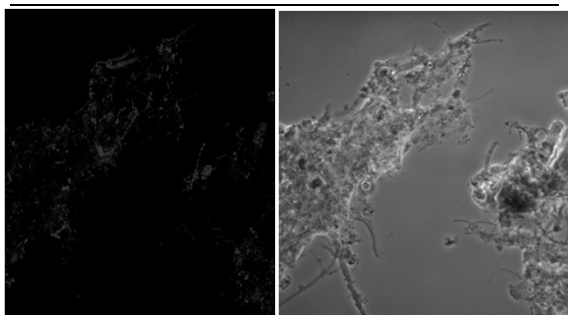
Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Eubakterie w kłaczkach osadu czynnego



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



*Eubakterie w kłaczkach osadu czynnego (zewnętrzne źródło węgla – etanol)*




---

---

---

---

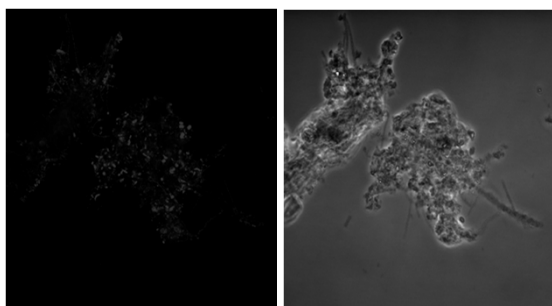
---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



*Eubakterie w kłaczkach osadu czynnego (zewnętrzne źródło węgla – oleje fuzlowe)*




---

---

---

---

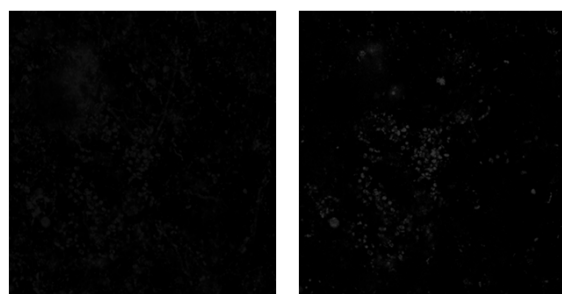
---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



*Eubakterie w kłaczkach osadu czynnego*

*Bakterie denitryfikacyjne - Thauera spp.*




---

---

---

---

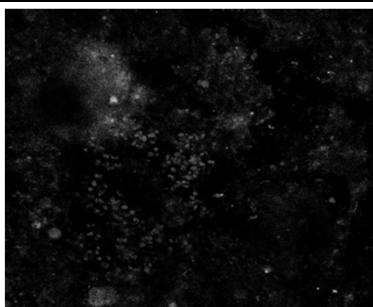
---

---

---

---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Eubakterie i bakterie denitryfikacyjne - *Thauera* spp. (zewnętrzne źródło węgla – oleje fuzlowe)

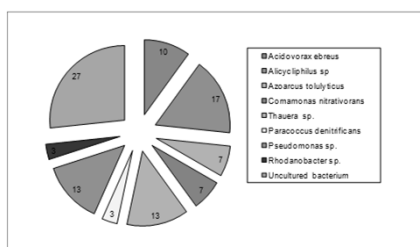


INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Metoda PCR-DGGE - różnicowanie gatunkowe bakterii osadu czynnego  
(zewnętrzne źródło węgla - oleje fuzlowe)

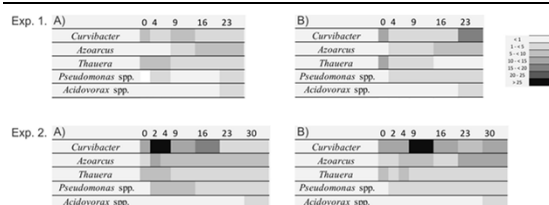


INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Podczas przeprowadzonego eksperymentu z zaszczepionym inokulum  
stwierdzono obecność *Azarcus*, *Thauera* i *Curvibacter*.

Natomiast nie odnotowano obecności *Pseudomonas* spp oraz *Acidovorax*

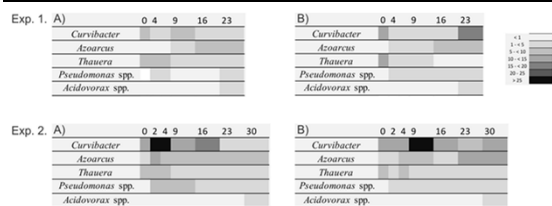


INNOWACYJNA  
GOSPODARKA  
NARODOWA STRATEGIA ROZWOJU

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



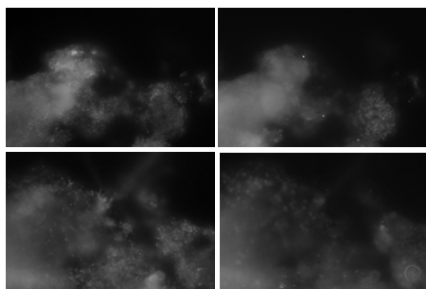
Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Najliczniej występowały bakterie z rodzaju Curvibacter i Azoarcus.  
Azoarcus oraz Thauera,



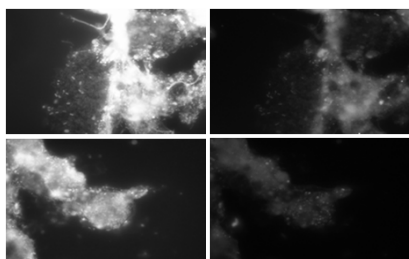
Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Bakterie z grupy Curvibacter  
tworzące w kłaczkach osadu czynnego wyraźne konsorcja



Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.



Bakterie z grupy Curvibacter tworzące w kłaczkach osadu czynnego  
wyraźne konsorcja





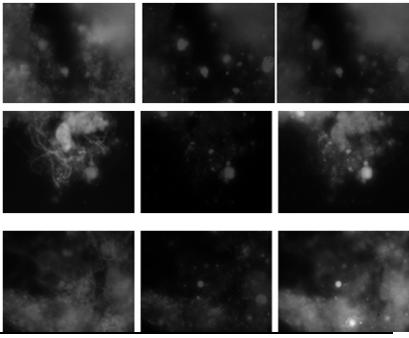
Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.


---

Fot 4. Bakterie z grupy GRb


Fot 5. Bakterie *Thauera* (Thau646)

Fot 6. Bakterie *Azoarcus* (AZO644)





**INNOWACYJNA  
GOSPODARKA**  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

---

---

---

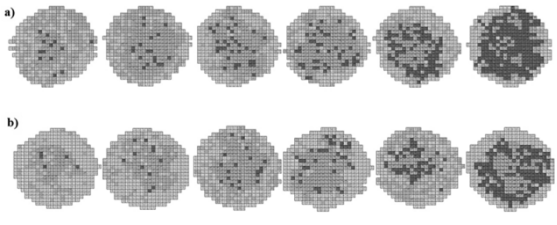
---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.


---

a)


b)



W przeprowadzonym doświadczeniu bakterie *Azoarcus* rozwijały się intensywniej w reaktorach zasilanych etanolem a), a po czasie aklimatyzacji także w reaktorach zasilanych fuzalami b)



**INNOWACYJNA  
GOSPODARKA**  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

---

---

---


---

Seminarium naukowo-techniczne  
„Perspektywy stosowania alternatywnych źródeł węgla w oczyszczalniach ścieków”  
Gdańsk, 20-22 marca 2013 r.


---

Wprowadzenie nowych zewnętrznych źródeł węgla w celu zintensyfikowania procesów usuwania azotu ze ścieków wymaga lepszego zrozumienia zależności struktury biocenozy drobnoustrojów.

Niniejsze badania wykazały, że olej fuzlowy ma podobny wpływ na populacje bakterii denitryfikacyjnych jak konwencjonalne źródło węgla – etanol.



**INNOWACYJNA  
GOSPODARKA**  
NARODOWA STRATEGIA INNOWACJI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

---

---

---

---

---

---

---

---

Bakterie *Curvibacter* i *Azoarcus*, są powszechnie spotykane procesach fermentacyjnych w pełnej skali. Dodatek obu produktów produkcji gorzelniczej w badanych stężeniach nie wpływa znacząco na zmianę struktury populacji mikroorganizmów i jednocześnie zapewnia wysoką wydajność denitryfikacji.

Stwierdzono jednak, iż ponad 15% dodatek osadów fermentacyjnych do ścieków zmienia znacząco strukturę kłaczków i może spowodować problemy związane z pracą osadu czynnego.