

ŚRODOWISKO

CZASOPISMO TECHNICZNE
TECHNICAL TRANSACTIONS
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

WYDAWNICTWO
POLITECHNIKI KRAKOWSKIEJ

2-Ś/2011
ZESZYT 6
ROK 108
ISSUE 6
YEAR 108

RENATA KOCWA-HALUCH, TERESA WOŹNIAKIEWICZ*

ANALIZA MIKROSKOPOWA OSADU CZYNNEGO
I JEJ ROLA W KONTROLI PROCESU
TECHNOLOGICZNEGO OCZYSZCZANIA ŚCIEKÓW

MICROSCOPIC ANALYSIS OF ACTIVATED SLUDGE
AND ITS ROLE IN CONTROL OF TECHNOLOGICAL
PROCESS OF WASTEWATER TREATMENT

Streszczenie

W artykule przedstawiono rolę mikroskopowej analizy osadu czynnego w ocenie procesu biologicznego oczyszczania ścieków i kontrolowaniu rozwoju bakterii nitkowatych.

Słowa kluczowe: osad czynny, bakterie nitkowate, oczyszczanie ścieków, puchnięcie osadu czynnego, pienienie

Abstract

The paper summarizes the role of microscopic analysis of activated sludge in the evaluation of biological wastewater treatment and in the monitoring of filamentous bacteria growth.

Keywords: activated sludge, filamentous bacteria, wastewater treatment, activated sludge bulking, foaming

* Prof. dr hab. Renata Kocwa-Haluch, dr Teresa Woźniakiewicz, Instytut Zaopatrzenia w Wodę i Ochrony Środowiska, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Krakowska.

1. Osad czynny jako ekosystem

Osad czynny jest złożonym układem biologicznym, w którym jednocześnie zachodzą procesy fizyczne i reakcje biochemiczne, prowadzące w efekcie do oczyszczenia ścieków. Na pracę tego ekosystemu wpływa wiele czynników. Makroskopowo osad czynny ma wygląd kłaczkowatej zawiesiny. Podstawową jednostką strukturalno-fizjologiczną jest kłaczek. Na powierzchni kłaczkach zachodzą procesy fizyczne, polegające na adsorpcji substancji organicznych. Przyjmuje się, że 1 g suchej masy osadu czynnego ma ok. 100–200 m² powierzchni. Większość zawartych w ściekach związków nie jest bezpośrednio wchłaniana do wnętrza kłaczków, lecz po adsorpcji na jego powierzchni, ulega rozkładowi na mniejsze fragmenty. Dopiero w tej postaci wchłaniana jest przez komórki mikroorganizmów, w których podlega dalszym przemianom. Mikroorganizmy, wchodzące w skład osadu czynnego, wytwarzają enzymy katalizujące różnorodne reakcje biochemiczne. Reakcje te polegają na rozkładzie związków wielkocząsteczkowych, takich jak białka, węglowodany, tłuszcze, do końcowych produktów nieorganicznych (tj. CO₂, H₂O, NO₃⁻, PO₄⁻³, SO₄⁻²). Równocześnie część związków jest wykorzystywana do syntezy biomasy mikroorganizmów [6, 20, 24]. Schemat przemian zachodzących w osadzie czynnym przedstawiono na rysunku 1.

Powstawanie osadu czynnego zachodzi podczas napowietrzania ścieków. Zawarte w ściekach drobnoustroje tworzą spontanicznie kłaczki osadu. W procesie tym odgrywają rolę następujące czynniki:

- wytwarzanie śluzowatych otoczek przez bakterie, sprzyja łączeniu się komórek za pomocą tego śluzu w kłaczkowate skupiska,
- dodatnio naładowane jony, powodują łączenie ujemnie naładowanych komórek,
- wytwarzanie przez niektóre bakterie siatki bardzo cienkich nitek, zbudowanych z polisacharydów (jak np. celuloza), ułatwia łączenie się komórek.

Regularne obserwacje mikroskopowe struktury, wielkości kłaczek, składu organizmów oraz zmian zachodzących w ich populacji, są przydatne przy prawidłowym kierowaniu procesem oczyszczania ścieków metodą osadu czynnego [11, 14, 22, 37].

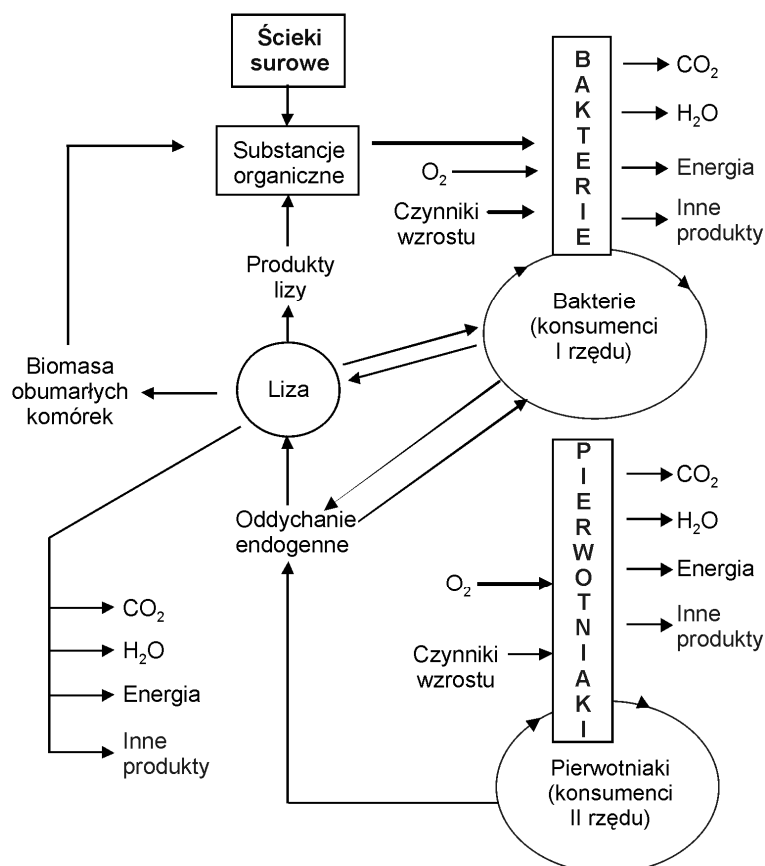
Dodatkowo ocenia się organoleptycznie barwę i zapach osadu czynnego. Barwa osadu zależy głównie od składu ścieków, ale także od stopnia natlenienia, wieku i obciążenia osadu. Niedotlenienie, jak też długi wiek osadu, a także przeciążenie ładunkiem zanieczyszczeń, powodują, że barwa osadu jest ciemniejsza. Zapach dobrze pracującego osadu jest specyficzny, świeży, ziemisty. Może ulegać zmianie na skutek obecności w ściekach związków odorogennych. Natomiast niedotlenienie osadu powoduje powstawanie zapachu gnilnego.

Systematycznie prowadzona analiza mikroskopowa osadu czynnego oraz badania organoleptyczne, takich cech jak barwa i zapach, umożliwiają:

- ocenę warunków tlenowych w komorze napowietrzania,
- stwierdzenie zaburzeń przebiegu procesu osadu czynnego,
- stwierdzenie wpływu substancji toksycznych na biocenozę osadu czynnego,
- określenie w przybliżeniu zakresu obciążenia osadu czynnego ładunkiem zanieczyszczeń,
- ustalenie przyczyny obniżonej zdolności osadu do sedymentacji,
- ustalenie przyczyny występowania piany w komorach napowietrzania czy też piany lub kożucha na powierzchni osadnika wtórnego.

Tak więc morfologia kłaczków i ich skład (określone na podstawie badań mikroskopowych), jak też barwa i zapach osadu (badane organoleptycznie), mogą być wskaźnikami charakteryzującymi warunki pracy osadu czynnego [25, 37].

Kontrolne badania mikroskopowe osadu czynnego powinny stanowić uzupełnienie rutynowej kontroli technologicznej i efektów oczyszczania ścieków.



Rys. 1. Schemat przemian biochemicznych zachodzących podczas biologicznego oczyszczania ścieków metodą osadu czynnego [22]

Fig. 1. Overview of biochemical processes taking place during biological wastewater treatment

1.1. Morfologia kłaczków

Obserwacje mikroskopowe pozwalają określić morfologiczne cechy, tj. kształt, strukturę i rozmiary kłaczków. W każdym osadzie występują różnorodne kłaczkiki. Przeglądnięcie kilku preparatów umożliwia określenie, jakie formy dominują w osadzie.

Kształt kłaczków

Kłaczkiki o kształcie mniej lub bardziej kulistym określa się jako zaokrąglone. Jeśli ich postać odbiega znacznie od kształtu kulistego, określa się ją jako nieregularną. Tworzeniu

się nieregularnych kłaczków sprzyja obecność bakterii nitkowatych, jak też wzrost obciążenia oczyszczalni.

Struktura kłaczków

Kłaczek ma strukturę zwartą (zbitą), jeśli widoczne są tylko nieliczne wolne przestrzenie (perforacje). Struktura luźna kłaczków cechuje się obecnością licznych perforacji pomiędzy cząstkami kłaczków. Cechy morfologiczne kłaczków dominujących w osadzie, mają duże znaczenie w ocenie osadu czynnego, gdyż pozwalają wnioskować o jego zdolności do sedimentacji [11, 14].

Trwałość kłaczków

Kłaczki wykazują różną trwałość, mogą być słabe lub mocne (stabilne). Jest to związane ze spójnością pomiędzy komórkami bakterii. Jeśli jest ona nieduża i nie ma stabilnego jądra kłaczków, kłaczki łatwo ulegają zniszczeniu (np. przy lekkim poruszeniu szkiełkiem nakrywkowym). Ich linia brzegowa jest rozmyta, nie ma wyraźnej granicy między kłaczkiem a fazą płynną.

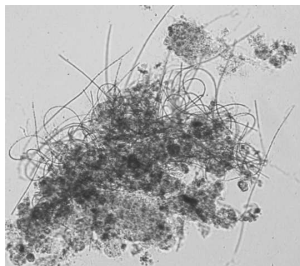
O stabilności kłaczków decyduje głównie obciążenie oczyszczalni ścieków. Przy bardzo niskich jak i bardzo wysokich obciążeniach tworzą się słabe kłaczki. Mocne, stabilne kłaczki tworzą się najczęściej przy średnich obciążeniach.

Wielkość kłaczków

Rozmiary kłaczków osadu czynnego mieszczą się zwykle w granicach 150–300 μm . Bardzo drobne kłaczki (o średnicy $< 100 \mu\text{m}$), mogą powstawać w wyniku wzrostu dyspersyjnego bakterii (np. przy wpracowywaniu się osadu czynnego) lub wskutek rozpadu większych kłaczków. W obu przypadkach jest zmniejszona zdolność osadu do sedimentacji.

Duże kłaczki (o średnicy $> 500 \mu\text{m}$), często przerośnięte bakteriami nitkowatymi (rys. 2), także pogarszają zdolności sedimentacyjne osadu [11, 14, 37]. Na wielkość kłaczków mają wpływ:

- wiek osadu,
- czas zatrzymania ścieków w komorze napowietrzania,
- zawartość związków azotowych w ściekach,
- sposób i szybkość mieszania w komorze napowietrzania,
- obciążenie osadu ładunkiem zanieczyszczeń,
- liczebność i aktywność organizmów odżywiających się bakteriami.



Rys. 2. Kłaczek osadu czynnego z krótkimi nitkami bakterii nitkowatych
Fig. 2. Activated sludge floc with short bacterial filaments

Im dłuższy wiek osadu, tym większe kłaczkki o zwartej strukturze, często z krótkimi nitkami bakterii nitkowatych.

Przy dłuższych czasach zatrzymania kłaczkki osadu są większe, zwykle bez bakterii nitkowatych. Także duża zawartość związków azotowych sprzyja tworzeniu się większych kłaczek. Natomiast zbyt duże zawirowania w komorze napowietrzania powodują powstawanie małych kłaczek. Podobnie działa obecność w ściekach substancji toksycznych lub też wysokich stężeń związków tworzących kompleksy.

1.2. Skład kłaczek

Obserwacje mikroskopowe przy powiększeniach od 500 do 1000 krotnych pozwalają na ocenę ilości i rodzaju mikroorganizmów występujących w kłaczkach osadu czynnego. Różnorodność składu oraz obecność charakterystycznych grup bakterii jest związana z ilością i jakością dostępnych dla nich substancji odżywczych. Duża różnorodność mikroorganizmów sprzyja rozkładowi znacznej liczby różnych związków.

Zbyt duże obciążenie osadu i ograniczona zawartość substancji odżywczych powodują, że w kłaczkach jest obecnych niewiele rodzajów mikroorganizmów. Często występują wtedy konglomeraty złożone z jednego rodzaju bakterii, które posiadają otoczki śluzowe, ułatwiające łączenie komórek ze sobą.

W dobrze funkcjonującym osadzie czynnym prawie wszystkie bakterie są skupione w kłaczkach. Natomiast wolnożyjące bakterie są nieliczne i służą jako pokarm dla pierwotniaków obecnych w osadzie. Duża liczba wolno żyjących bakterii może być skutkiem zbyt wysokiego obciążenia osadu i niedostatecznego natlenienia. Dochodzi do rozpadu kłaczek (deflokulacji), jak i intensywnego rozwoju bakterii poza kłaczkami, ze względu na znaczną dostępność składników odżywczych.

Kłaczkki osadu czynnego zawierają w swoim składzie:

- żywe drobnoustroje (głównie heterotroficzne bakterie właściwe),
- martwe komórki,
- nierozłożone duże cząstki organiczne,
- cząstki nieorganiczne (np. piasek).

W osadzie czynnym oprócz bakterii właściwych występują:

- mikroorganizmy nitkowane (bakterie nitkowane, promieniowce, grzyby),
- pierwotniaki (głównie orzęski, rzadziej ameby i wiciowce),
- zwierzęta wielokomórkowe (głównie wrotki, nicienie, rzadziej skąposzczety, pajęczaki, niesporczaki, brzuchorzęski, itp.) [6, 11, 22].

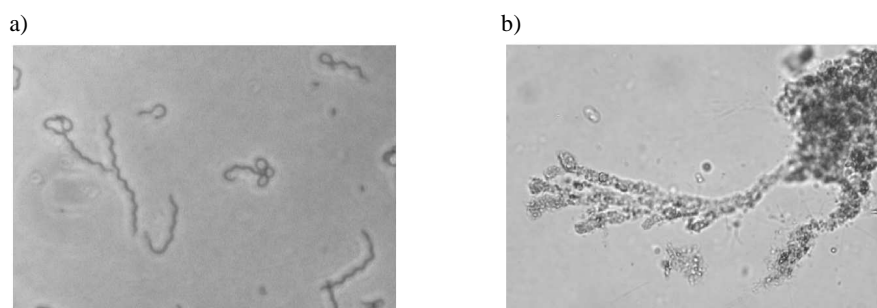
Bakterie właściwe

Bakterie obecne w kłaczku osadu czynnego to pojedyncze komórki lub mikrokolonie bakterii właściwych, a także bakterie nitkowane. Przy czym zwykle ok. 80% bakterii to żywe i aktywne komórki. Bakterie stanowią jednak niewielką część (zaledwie 5–20%), substancji organicznej kłaczkki. Pozostałe 80–95% to martwa substancja organiczna, która odpowiada za wiele koloidalno-chemicznych właściwości kłaczkki [40].

Bakterie właściwe (*Eubacterae*) należą do najliczniej występujących mikroorganizmów w osadzie czynnym. Lista bakterii, stwierdzanych w osadzie czynnym, liczy prawie 300 gatunków, a liczba komórek bakterii osiąga wartość 10^9 – 10^{12} w 1 g suchej masy osadu. Są to głównie bakterie heterotroficzne, ale także i chemoautotroficzne, saprofityczne i chorobotwórcze.

Do najczęściej spotykanych rodzajów należą: *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Lophomonas*, *Nitrosomonas*, *Azotobacter*, *Chromobacterium*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, a także bakterie z grupy *coli* – *aerogenes*. W osadzie czynnym pojawiają się także bakterie spiralne z rodzaju *Spirillum* i *Spirochaeta*. *Spirochaeta* (rys. 3a), występuje głównie w lecie i przy niskich obciążeniach osadu czynnego, a *Spirillum* przy niskich stężeniach tlenu w komorze napowietrzania.

Szczególą rolę w osadzie pełnią bakterie zooglealne, wytwarzające śluz, ułatwiający zlepianie się komórek, zawiesin, substancji koloidalnych. Są to najczęściej bakterie z gatunku *Zoogloea ramigera*. Ich skupiska mają często wygląd palcowatych wyrostków (rys. 3 b).



Rys. 3. Bakterie w osadzie czynnym: a) krętki (*Spirochaeta*) (1000×), b) bakterie z rodzaju *Zoogloea* (pow. 100×)

Fig. 3. Bacteria in activated sludge: a) *Spirochaeta* sp., b) bacteria of *Zoogloea* genus

Mikroorganizmy nitkowate spotykane w osadzie to: **promieniowce**, **bakterie nitkowate** i **grzyby**. Ich nadmierna ilość powoduje pogorszenie się zdolności osadu do sedimentacji i zakłócenia w pracy oczyszczalni.

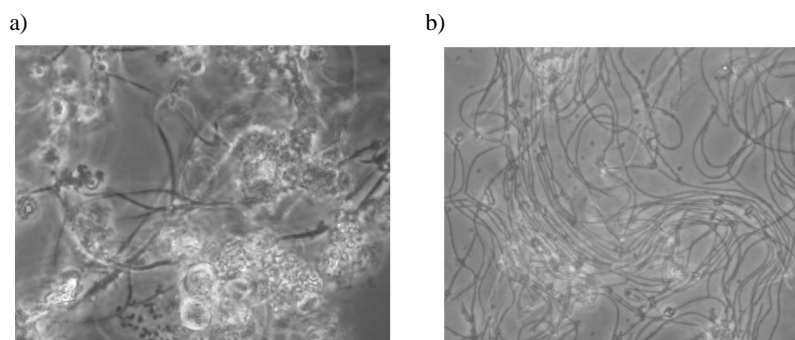
Promieniowce (*Actinomyceetales*), tworzą rozgałęzione nitki, a ich obecność w osadzie (szczególnie gatunków z rodzaju *Nocardia* i *Rhodococcus*) jest wiązana ze zjawiskiem nadmiernego pienienia się lub powstawania kożuchów na powierzchni komór napowietrzania i osadników wtórnych.

Bakterie nitkowate. Bakterie są organizmami jednokomórkowymi, które rozmnażają się przez podział komórki. Komórki bakterii nitkowatych po podziale nie oddzielają się od siebie i tworzą łańcuchy (nitki). Ścianki poprzeczne pomiędzy komórkami tworzącymi nitkę mogą być dobrze lub słabo dostrzegalne w mikroskopie świetlnym. Istnieje duża różnorodność bakterii nitkowatych. Jedne tworzą długie, grube nici, inne krótkie i cienkie nitki. U niektórych bakterii nitkowatych nitka jest otoczona rurkową pochewką.

Niektóre bakterie nitkowate znajduje się głównie we wnętrzu kłaczków, inne występują obficie w fazie płynnej między kłaczkami (rys. 4).

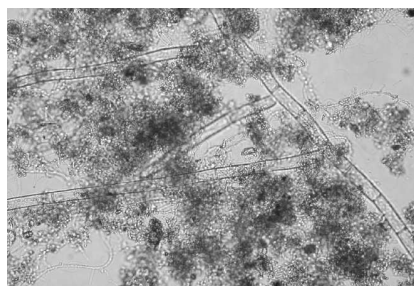
Można wyróżnić około 80 rodzajów bakterii nitkowatych, spotykanych w osadzie czynnym. Występują one z różną częstotliwością. Większość z nich była do niedawna całkowicie nieznaną. Najczęściej spotykane w osadzie czynnym są: *Nocardia*-podobne promieniowce, *Beggiatoa* sp., *Haliscomenobacter hydrossis*, *Leucothrix* sp., *Microthrix parvicella*, *Nostocoida limicola*, *Sphaerotilus* sp., *Thiothrix* sp. oraz nieokreślone do rodzaju typy morfologiczne bakterii, oznaczone symbolami cyfrowymi: Typ 0041, Typ 0092, Typ 021N, Typ 0581, Typ 0675, Typ 0803, Typ 0961, Typ 1701, Typ 1851 oraz Typ 1863.

Nie wszystkie organizmy nitkowate wpływają w taki sam sposób na sedimentację kłaczków. Zwykle jednak obfity wzrost bakterii nitkowatych jest przyczyną pęcznienia osadu czynnego [11,14, 27, 30, 57].



Rys. 4. Bakterie nitkowate: a) w kłaczkach, b) między kłaczkami
Fig. 4. Filamentous bacteria: a) inside flocs, b) between flocs

Grzyby nie są typową mikroflorą osadu czynnego. Choć występują rzadko w osadzie czynnym, ze względu na brak dogodnych dla ich rozwoju warunków, mogą być jednak przyczyną puchnięcia osadu. Występowanie grzybów w osadzie jest możliwe jeśli są właściwe warunki tlenowe, odpowiednio niskie pH i zawartość azotu oraz znaczne ilości węglowodanów (rys. 5).



Rys. 5. Strzępki grzybni wśród kłaczków osadu czynnego
Fig. 5. Mycelial filaments among activated sludge flocs

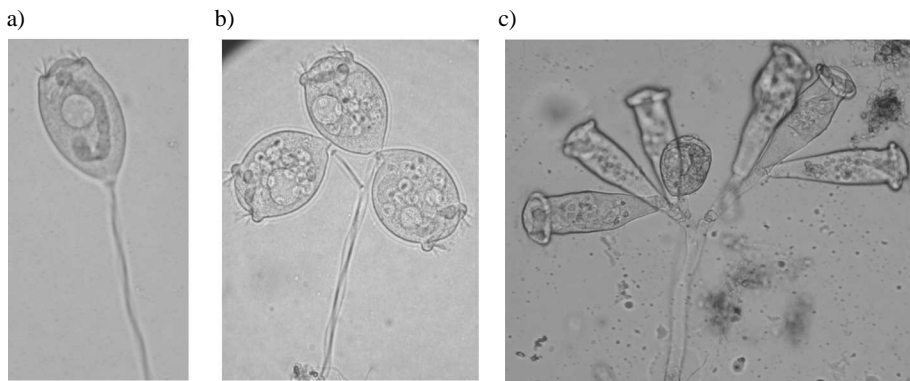
Specyficzny skład niektórych ścieków przemysłowych może doprowadzić nawet do dominacji grzybów w osadzie. Grzyby najczęściej spotykane w osadzie czynnym to: *Geotrichum* sp., *Pullularia pullulans*, *Phoma* sp., *Sporotrichum* sp. oraz grzyby niedoskonałe (*Fungi imperfecti*) rzadziej *Trichosporon* sp. czy nawet grzyby drapieżne (zdolne do chwytania nicieni) z rodzaju *Arthrotrix*.

Pierwotniaki. W osadzie czynnym spotyka się wiele gatunków pierwotniaków. Są one organizmami jednokomórkowymi, o zróżnicowanej budowie i fizjologii. Pierwotniaki żywią się bakteriami wolno pływającymi w fazie płynnej lub bakteriami na brzegach kłaczków oraz większymi cząstkami organicznymi. Spośród pierwotniaków w osadzie czynnym występują głównie **orzęski**, a prócz nich także **wiciowce**, **korzenionózki** i **słonecznice**.

Obecność charakterystycznych grup tych organizmów, a zwłaszcza zmiana proporcji ilościowych występujących grup, pozwala na ocenę przebiegu procesu oczyszczania ścieków, a także może sygnalizować zaburzenia pracy osadu czynnego [14, 22, 25, 33].

Orzęski (*Ciliata*) są grupą pierwotniaków najczęściej występujących w osadzie czynnym. Powierzchnia ich ciała jest częściowo lub całkowicie pokryta rzęskami. Rzęski służą do naganiania pokarmu (bakterii, cząstek organicznych), jak też do poruszania się. Wyróżnia się formy osiadłe, pełzające i wolno (swobodnie) pływające. Najczęściej w osadzie spotyka się ok. 30 gatunków orzęsków, jednak liczba gatunków stwierdzanych w osadach czynnych może sięgać nawet stukilkudziesięciu.

Orzęski osiadłe. U orzęsków osiadłych komórka posiada stylik (nitkowatą nóżkę), którym przyczepia się do kłaczka osadu. Posiada też peristom (otwór gębowy), otoczony charakterystycznie ułożonymi rzęskami. Kształt ciała jest zbliżony do kielicha, trąbki lub wazonu. Najczęściej występują orzęski osiadłe z rodzajów; *Vorticella*, *Carchesium*, *Opercularia* i *Epistylis* (rys. 6).



Rys. 6. Orzęski osiadłe: a) *Vorticella* sp., b) *Carchesium* sp., c) *Epistylis* sp.
Fig. 6. Anchored ciliates: a) *Vorticella* sp., b) *Carchesium* sp., c) *Epistylis* sp.

Orzęski pełzające poruszają się po powierzchni kłaczka z dużą szybkością. Spośród 4 gatunków należących do rodzaju *Aspidisca* (rys. 7a), najczęściej w osadzie czynnym spotyka się *A. costata*. Innym orzęskiem pełzającym, który także często jest wykrywany w osadzie, jest *Trachelophyllum pusillum*. Porusza się on ruchem ślizgowym, powoli przez kłaczki osadu i po ich powierzchni.

Orzęski swobodnie pływające posiadają różnie ukształtowane ciało, częściowo lub całkowicie pokryte rzęskami. Poruszają się z różną szybkością, głównie w fazie płynnej między kłaczkami osadu, niektóre ślizgają się po ich powierzchni. Najczęściej spotykane w osadzie czynnym orzęski wolno pływające należą do rodzajów: *Litonotus*, *Euplotes* (rys. 7b), *Colpidium*, *Chilodonella*, *Blepharisma*, *Paramecium* (rys. 7c) i *Spirostomum*.

Wiciowce (*Flagellata*), są zwykle mniejsze niż orzęski. Nazwa tych pierwotniaków jest związana z posiadaniem przez nie wici (od jednej do ośmiu), które służą jako aparat ruchu. Wici są dużo dłuższe i mocniejsze niż rzęski. Niektóre wiciowce posiadają peristom, inne odżywiają się na drodze fagocytozy. Rozmnażają się przez podział podłużny.

Spośród wiciowców występujących w osadach najczęściej spotyka się przedstawicieli rodzajów: *Bodo*, *Monosiga*, *Hexamitus*, *Pleuromonas*, *Poteriodendron* i *Trepomonas*.

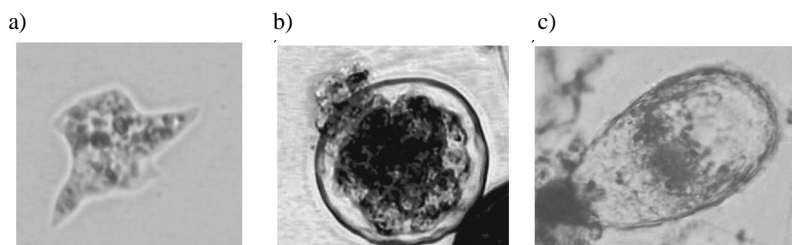


Rys. 7. Orzęski: a) *Aspidisca* sp., b) *Euplotes* sp., c) *Paramecium* sp.
Fig. 7. Ciliates: a) *Aspidisca* sp., b) *Euplotes* sp., c) *Paramecium* sp.

Korzenionózki (*Rhizopoda*), są to pierwotniaki poruszające się bardzo wolno, przy pomocy nibynózek, czyli wytwarzanych okresowo wypustek cytoplazmatycznych. Wyróżnia się tzw. ameby nagie i ameby skorupkowe.

Ameby nagie (*Amoebida*) są jednokomórkowymi organizmami osłoniętymi jedynie cienką błoną (pellikulą). Pokarm pobierają na drodze fagocytozy. Ze względu na ziarnistą strukturę mogą przypominać wyglądem kłaczek osadu, tym bardziej, że ich wielkość waha się między 50 a 400 μm . W osadzie czynnym spotyka się przedstawicieli rodzaju *Amoeba* (rys. 8a).

Ameby skorupkowe (*Testacida*) mają ciało osłonięte skorupką, przez otwór w niej wysuwane są nibynózki. Wielkość tych pierwotniaków mieści się pomiędzy 30 i 200 μm . Kształt skorupki może być kulisty lub dzwonkowaty. Skorupka może być przezroczysta lub posiadać specyficzną strukturę. Z rodzajów często spotykanych w osadach należy wymienić: *Arcella* (rys. 8b), *Diffugia* i *Euglypha* (rys. 8c).



Rys. 8. Ameby: a) naga; b), c) skorupkowe
Fig. 8. Amoebae: a) naked; b), c) testate

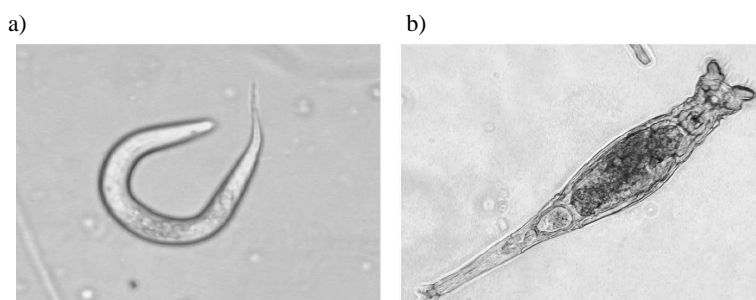
Słonecznice. W osadzie czynnym można spotkać przedstawicieli promienionózek należących do słonecznic (*Heliozoa*). Ich jednokomórkowe ciało ma kształt kulisty lub elipsoidalny, z którego są wysuwane cienkie, igłowate, proste nibynózki. Służą one do chwytania bakterii jak i glonów, które przez dotknięcie zostają porażone, a potem zjedzone przez komórkę.

Organizmy wielokomórkowe

Do najczęściej spotykanych w osadzie czynnym organizmów wielokomórkowych należą nicienie (*Nematodes*), zaliczane do robaków obłych (*Nemathelminthes*) oraz wrotki (*Rotatoria*).

Nicienie (rys. 9a) są łatwe do zauważenia ze względu na wielkość (od 500–3000 μm), ale trudne do obserwacji ze względu na ich szybkość poruszania się w preparacie.

Wrotki (rys. 9b) są także ruchliwymi organizmami o mniej lub bardziej podłużnym kształcie, najczęściej osiągają wielkość od 100 do 500 μm , niektóre gatunki przekraczają długość nawet 1000 μm . Wrotki w części głowowej posiadają jeden lub dwa wieńce ułożonych koliście, dużych rzęsek (aparatus wrotny), które służą do odwirowywania pokarmu oraz jako narząd ruchu. Wydłużona część tylna, tzw. noga, jest najczęściej rozwidlona na końcu. Może także służyć do poruszania się w charakterystyczny sposób [4, 11, 37].



Rys. 9. Organizmy wielokomórkowe: a) nicienie, b) wrotki
Fig. 9. Multicellular organisms: a) Nematode, b) Rotifer

W osadzie czynnym mogą też występować okresowo inne wielokomórkowce: pajęczaki (*Arachnoidea*), brzuchorzęski (*Gastrotricha*) i niesporczaki (*Tardigrada*) [4, 22, 25].

Zbyt duża ilość organizmów wielokomórkowych może prowadzić do rozbijania kłaczków osadu.

1.3. Rola i znaczenie wskaźnikowe organizmów występujących w osadzie czynnym

Zespół organizmów występujących w osadzie czynnym składa się z wielu wyspecjalizowanych grup o ściśle określonych, powiązanych ze sobą funkcjach. W każdej oczyszczalni biologicznej w zależności od rodzaju ścieków, obciążenia osadu czynnego, sposobu napowietrzania, tworzy się specyficzny dla tych warunków osad czynny. Zupełnie inne gatunki organizmów będą występować w osadzie oczyszczalni przy zakładach mleczarskich, a inne w oczyszczalni ścieków bytowo-gospodarczych [14, 25].

Ważną rolę w osadzie czynnym pełnią bakterie heterotroficzne, które wytwarzają różnorodne enzymy. Przy ich udziale możliwy jest rozkład wielu substancji chemicznych, ulegających adsorpcji na powierzchni kłaczków. Im bardziej zróżnicowany skład mikroorganizmów tym bardziej efektywny rozkład rozmaitych związków.

Skład i liczebność drobnoustrojów występujących w kłaczkach osadu czynnego zależy od ilości i dostępności substancji odżywczych, warunków tlenowych, obciążenia osadu, a więc rodzaju i składu ścieków, oraz rodzaju urządzeń, w których prowadzony jest proces.

Szczególną rolę w osadzie pełnią bakterie zooglealne, wytwarzające śluz. Oprócz głównego producenta śluzu – bakterii z rodzaju *Zoogloea*, również inne bakterie np. z rodzaju *Pseudomonas*, także wytwarzają pewne ilości śluzu. Jest to niezbędne do wytworzenia kłaczków osadu. Jednakże przerost ilości bakterii *Zoogloea ramigera* wpływa niekorzystnie na zdolności sedymentacyjne osadu.

Mikroorganizmy nitkowate mogą występować w osadach czynnych lub też mogą być praktycznie nieobecne. Zagrożenie stanowi nadmierny rozwój form nitkowatych, który prowadzi do zaburzenia zdolności sedimentacji osadu, a także zdolności do odwadniania (zagęszczania) osadu.

Rola pierwotniaków jako konsumentów bakterii w osadzie czynnym polega na:

- usuwaniu wolnoptywających bakterii, co sprzyja klarowaniu się ścieków oczyszczonych,
- niedopuszczaniu do nadmiernego rozrostu kłaczek, zachowanie odpowiednich warunków do przebiegu adsorpcji jak i dyfuzji związków chemicznych w obrębie kłaczka,
- odmładzaniu populacji bakteryjnej, prowadzącym do podwyższania wydajności procesów biochemicznych, a także poprzez wytwarzanie zewnątrzkomórkowego śluzu, przyczynianiu się do tworzenia kłaczek osadu.

Występowanie pewnych gatunków orzęsków może być wskaźnikiem przebiegu niektórych procesów przy biologicznym oczyszczaniu ścieków metodą osadu czynnego. Przykładowo:

- o dobrym przebiegu nityfikacji świadczy obecność orzęska wolno pływającego *Coleps hirtus* oraz korzenionózek z rodzajów *Arcella* i *Euglypha*,
- o braku tlenu lub niskim jego stężeniu oraz o zbyt dużym obciążeniu osadu ładunkiem zanieczyszczeń może świadczyć obecność *Colpidium campylum* oraz *Vorticella microstoma*,
- na właściwe stężenie O₂ rozpuszczonego wskazuje obecność *Aspidisca costata*, jak też *Euplotes affinis* oraz *Vorticella convalaria* i *V. campanula*,
- niedotlenienie osadu sygnalizuje obecność *Vorticella extensa*,
- o przeciążeniu osadu czynnego świadczy zanik ameb skorupkowych (*Testacea*), które występują w osadach przy niskim obciążeniu,
- obecność orzęsków z rodzajów: *Podophrya* i *Tokophrya* wskazuje na dobre natlenienie i niskie obciążenie osadu.

Główna rola zwierząt wielokomórkowych w osadzie czynnym, takich jak nicienie i wrotki, polega na wyjadaniu bakterii oraz małych pierwotniaków, co sprzyja odmładzaniu populacji i utrzymaniu równowagi biologicznej. Wrotki, które bardzo wolno rosną, występują w osadach ustabilizowanych, o długim wieku [4, 25].

Inne tkankowce, które mogą się pojawiać szczególnie w osadzie nisko obciążonym pełnią podobne funkcje jak wrotki i nicienie.

2. Bakterie odpowiedzialne za zakłócenia w pracy osadu czynnego

Biologiczne oczyszczalnie ścieków usuwające związki organiczne metodą osadu czynnego okresowo borykają się z występowaniem puchnięcia i pienienia osadu czynnego, a także ze związanymi z tym problemami. Zjawiska te mogą występować w różnej skali, począwszy od jedynie estetycznych efektów, poprzez pogorszenie jakości oczyszczonych ścieków, wzrost nakładów energetycznych, problemy związane z przeróbką osadów, aż po duże utrudnienia technologiczne. Przyczyny puchnięcia i powstawanie piany w oczyszczalniach ścieków były i są przedmiotem wielu badań i opracowań [2, 12, 19, 27, 30, 35, 57].

Badania te obejmują zarówno skład osadu czynnego oraz warunki technologiczne sprzyjające powstawaniu tych zjawisk, jak też poszukiwania sposobów zapobiegania, a także zwalczania zaistniałych już zakłóceń w działaniu osadu czynnego.

Osad czynny jest złożonym ekosystemem, na którego pracę oddziałuje wiele czynników. Bakterie obecne w kłaczkach osadu czynnego to pojedyncze komórki lub mikrokolonie bakterii właściwych, a także bakterie nitkowate. Przy czym zwykle ok. 80% bakterii to żywe i aktywne komórki. Bakterie stanowią jednak niewielką część (zaledwie 5–20%), substancji organicznej kłaczków. Pozostałe 80–95% to martwa substancja organiczna, która odpowiada za wiele koloidalno-chemicznych właściwości kłaczków [40].

Chcąc ocenić rolę bakterii w kłaczkach, jak i ich wpływ na właściwości osadu, należy odpowiedzieć na szereg pytań:

- jakie czynniki wpływają na skład bakteryjny kłaczków w różnych oczyszczalniach ścieków,
- w jaki sposób poszczególne gatunki oddziałują na kłaczek i właściwości osadu,
- jaki wpływ ma na właściwości osadu specyficzna dla danego mikroorganizmu aktywność metaboliczna.

Dobrze funkcjonujący osad czynny cechuje się zróżnicowanym lecz zrównoważonym składem mikrobiologicznym. Zmiany w proporcjach między mikroorganizmami uczestniczącymi w tworzeniu kłaczków, takie jak nadmierny rozwój bakterii zooglealnych czy ekscesywny rozwój bakterii nitkowatych, prowadzą do zmiany we właściwościach kłaczków i zakłóceń w pracy osadu.

Jednym z powodów wystąpienia tzw. nienitkowatego pęcznienia osadu może być niedobór azotu sprzyjający szybkiemu rozwojowi śluzowatych kolonii bakterii z rodzaju *Zoogloea* [11, 44]. Pewną rolę mogą odgrywać także nienitkowate bakterie o silnie hydrofobowym charakterze ścian komórkowych, a także zdolne do wytwarzania substancji powierzchniowo czynnych [28, 30, 44].

Jednak najczęstszą przyczyną niekorzystnych zmian właściwości osadu, prowadzących do pęcznienia i/lub powstawania piany jest obfity wzrost bakterii nitkowatych [11, 30, 35].

2.1. Bakterie nitkowate w osadzie czynnym

Obecnie znanych jest około 80 form bakterii nitkowatych występujących w osadzie czynnym, ale tylko ok. 10 z nich jest odpowiedzialnych za większość (ok. 90%) problemów eksploatacyjnych.

2.1.1. Metody badań populacji bakterii nitkowatych w osadzie czynnym

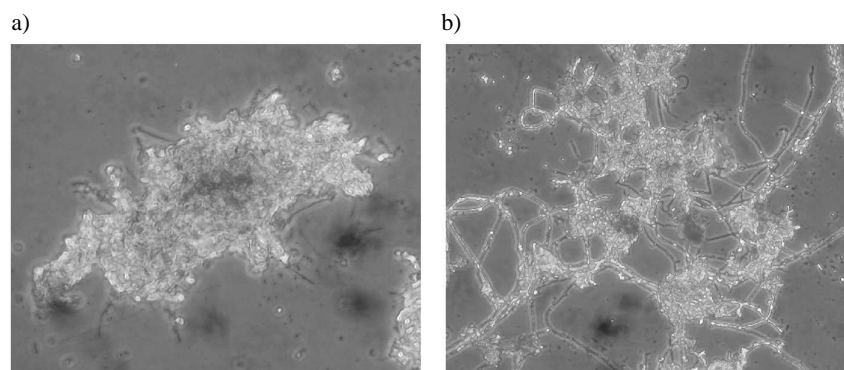
Badania mikroskopowe osadu czynnego mają na celu ocenę stopnia rozwoju (liczebności) bakterii nitkowatych w osadzie oraz określenie ich cech charakterystycznych, umożliwiających ich rozróżnienie techniką mikroskopową.

Ocenę liczebności mikroorganizmów przeprowadza się przy użyciu mikroskopu prowadząc obserwacje osadu czynnego w preparatach niebarwionych i barwionych.

Liczebność ogólną mikroorganizmów nitkowatych i liczebność poszczególnych szczepów oraz strukturę dominacji określa się na podstawie częstości występowania bakterii nitkowatych w kłaczkach oraz w przestrzeniach między kłaczkami przyporządkowując im określone kategorie. Jest to subiektywna ocena częstości występowania form nitkowatych, a liczba kategorii jest różna zależnie od przyjętego systemu. Eikelboom [11] zaleca stosowanie 5 kategorii, Jenkins [59] wyróżnia 6 kategorii zależnie od ilości nitkowatych z kłaczkami, natomiast Kunst i współautorzy [27], w przewodniku do oznaczania

bakterii nitkowatych przedstawia wzorce obrazowe dla 7 kategorii. Dlatego też przy opracowywaniu oceny należy wyraźnie zaznaczyć z jakiego systemu się korzysta.

Różnice w liczebności mikroorganizmów nitkowatych występujących w kłaczkach osadu przedstawiono na rysunkach 10a i b.

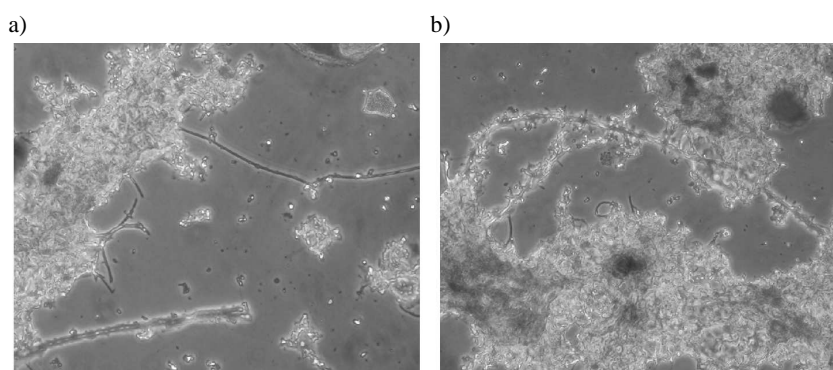


Rys. 10. Kłaczek osadu czynnego: a) z niewielką liczbą bakterii nitkowatych, b) z dużą liczbą bakterii nitkowatych – (400×)

Fig. 10. Activated sludge floc: a) with the low, b) with the high concentration of filamentous bacteria

Dążąc do identyfikacji bakterii nitkowatych występujących w kłaczkach osadu techniką mikroskopową bierze się pod uwagę następujące cechy morfologiczne nitek bakteryjnych: kształt, średnicę, obecność lub brak rozgałęzień, obecność pochewki, obecność porostów na nitkach, wcięcia na nitkach, kształt komórek, obecność inkluzji oraz zdolność nitek do ruchu [11, 27].

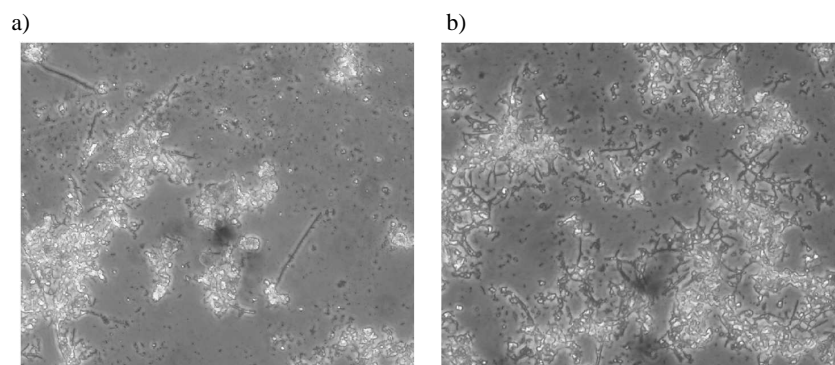
Po sporządzeniu preparatów przeprowadza się obserwacje mikroskopowe. Niektóre z cech morfologicznych bakterii nitkowatych, uwzględnianych przy ocenie mikroskopowej, przedstawiono na zdjęciach mikroskopowych osadu czynnego z jednej z krajowych oczyszczalni ścieków (rysunki 11 i 12).



Rys. 11. Mikrofotografie osadu czynnego: a) różnice w szerokości nitek bakterii, b) nitki z poroślą

Fig. 11. Microphotographs of activated sludge flocs: a) differences in width of filaments, b) filaments with attached growth

Oprócz preparatów niebarwionych, przyżyciowych, wykonuje się także preparaty barwione metodą Grama i metodą Neissera. Preparaty te pozwalają na określenie dodatkowych cech identyfikacyjnych – bakterie Gram+ czy Gram–, oraz ocenę zdolności bakterii do gromadzenia polifosforanów w komórkach.



Rys. 12. Mikrofotografie bakterii nitkowatych: a) nitki proste, b) nitki rozgałęzione (400×)
Fig. 12. Microphotographs of flocs: a) with straight filaments, b) with branched filaments

Badania identyfikacyjne bakterii nitkowatych (występujących w kłaczkach osadu), klasycznymi metodami mikrobiologicznymi utrudnia fakt, że przy użyciu obecnie dostępnych metod hodowlanych, praktycznie niemożliwe jest wyizolowanie i hodowanie większości z tych bakterii [45].

Sama izolacja może być przeprowadzona za pomocą mikromanipulatorów umożliwiających wybranie z osadu interesujących nas form, np. dominujących w osadzie bakterii nitkowatych, ale wymaga to specjalistycznego i drogiego wyposażenia, a często też dodatkowego wstępnego postępowania z osadem w celu rozluźnienia struktury kłaczków [40, 48].

Dlatego też coraz częściej w badaniach identyfikacyjnych sięga się po metody biologii molekularnej, które są niezależne od hodowli, oparte na ekstrakcji kwasów nukleinowych [18, 26, 46, 47, 48]. Należy tu wymienić m.in. metody oparte na łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) czy też fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) [1, 12, 16, 23, 32, 40, 54]. Te nowoczesne metody wymagają wcześniejszego poznania sekwencji odpowiednich odcinków kwasów nukleinowych, stworzenia danych baz, a także specjalistycznego wyposażenia i właściwej grupy badawczej w oczyszczalniach ścieków.

Poszukuje się też metod pozwalających na monitorowanie namnażania się bakterii nitkowatych. Jednym z możliwych rozwiązań mogłoby być badanie własności reologicznych osadu czynnego [3, 52].

Prowadzone są badania nad wykorzystaniem komputerowej analizy obrazu mikroskopowego do oceny dynamiki rozwoju bakterii nitkowatych w osadzie czynnym [7, 8, 10]. Stwierdzono, istnienie korelacji pomiędzy takimi parametrami morfologicznymi, jak rozmiary kłaczków, długość nitek, liczba nitek i właściwości sedymentacyjne osadu [21, 38, 39].

Skutecznym narzędziem do monitorowania namnażania się w osadzie bakterii nitkowatych, może być także połączenie badań 16S rRNA z laserową techniką pomiaru wielkości kłaczków i obserwacjami mikroskopowymi [18].

Możliwość monitorowania rozwoju bakterii nitkowatych umożliwia podjęcie działań pozwalających na technologiczne przeciwdziałanie pęcznieniu osadu czynnego [31, 43, 45, 49, 56]. Należy do nich m. in. stosowanie utleniaczy (chlor, nadtlenek wodoru), użycie koagulantów samych lub modyfikowanych flokulantami [9, 13, 17, 33, 55, 60], a także stosowanie biologicznych selektorów tlenowych, beztlenowych czy anoksydacyjnych [42, 43, 51].

2.1.2. Występowanie bakterii nitkowatych w oczyszczalniach ścieków na świecie i w Polsce

Bakterie nitkowate, jeżeli są obecne w osadzie czynnym we właściwych proporcjach, nie są szkodliwe, gdyż uczestniczą w tworzeniu szkieletu kłaczków. Czynniki sprzyjające nadmiernemu ich rozwojowi są zróżnicowane i w dużej mierze zależą od typu oczyszczalni, rodzaju ścieków, typu drobnoustroju, a nawet warunków klimatycznych. Dużą rolę odgrywają takie parametry jak: zawartość tlenu, dostępność azotu, fosforu i siarki, stosunek substratu pokarmowego do biomasy, pH i temperatura ścieków [11, 30, 34, 35, 59].

Nadmierny rozwój bakterii nitkowatych w osadzie czynnym powoduje problemy w oczyszczalniach ścieków na całym świecie. Dlatego też w wielu krajach prowadzone są badania nad ich występowaniem w różnych typach oczyszczalni. Porównanie wyników badań z lat 90. z danymi z ostatnich kilku lat wykazuje, że na to jakie gatunki będą najczęściej występować jako dominujące mogą mieć wpływ nawet takie czynniki, jak wzrost zużycia detergentów, wprowadzenie nowych substancji powierzchniowo-czynnych czy wzrost spożycia tłuszczów roślinnych w gospodarstwach domowych, gdyż zmiany te odbijają się na składzie ścieków dopływających do oczyszczalni.

Występujące w osadzie bakterie nitkowate w pewnych dla siebie odpowiednich warunkach zaczynają się nadmiernie rozmnażać, co prowadzi do pęcznienia i/lub pienienia osadu (rys. 13). Powstające kożuchy jak i piana, są często trudne do usunięcia i powodują pogorszenie efektywności oczyszczania oraz szereg problemów technologiczno-eksploatacyjnych, a co za tym idzie także ekonomicznych.



Rys. 13. Piana spowodowana nadmiernym rozwojem bakterii *M. parvicella* [61]
Fig. 13. Foam caused by excessive growth of *Microthrix parvicella*

Badając pianę i oznaczając typy bakterii odpowiedzialnych za jej powstawanie, stwierdzono, że najczęstszą przyczyną zakłóceń w pracy oczyszczalni ścieków w Anglii, Francji, Niemczech, Danii oraz Szwecji był ekscesywny rozwój *Microthrix parvicella* [29, 35, 49, 57, 58]. Drobnoustrój ten namnaża się intensywnie, gdy głównym źródłem węgla są długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, a źródłem azotu są zredukowane związki

azotu. *M. parvicella* może się rozwijać zarówno w warunkach beztlenowych jak i niedotlenionych. Ponadto produkowane przez bakterie substancje hydrofobowe, jak też związki powierzchniowo czynne przyspieszają pojawienie się piany.

Natomiast w USA, Australii, jak też w Japonii, pienienie było skutkiem rozwoju bakterii z rodzaju *Nocardia* lub szczepów *Nocardia*-podobnych [2, 19, 35, 49, 57]. Tworzenie się piany jest szczególnie często obserwowane w krajach o cieplejszym klimacie np. południowych stanach USA i Australii oraz w Afryce Południowej [49].

Izolowanie oraz identyfikacja szczepów mikroorganizmów nitkowatych z osadów czynnych w oczyszczalniach ścieków w krajach Ameryki Północnej i Południowej, a także Europy, Afryki, Azji czy Australii, pozwoliły na określenie, które szczepy występują najczęściej (tabela 1).

Tabela 1

**Mikroorganizmy nitkowate najczęściej występujące w osadzie czynnym
w oczyszczalniach ścieków w różnych rejonach świata**

Lp.	Rejon	Kraj	Mikroorganizmy nitkowate
1.	Ameryka Pn.	Kanada	Typ 021N, <i>Thiothrix</i> spp., <i>Haliscomenobacter hydrossis</i> , Typ 1701, Typ 1702 Typ 0675
		USA	Typ 1701, Typ 021N, Typ 0092, Typ 0041/ 0675, <i>Microthrix parvicella</i>
2.	Ameryka Pd.	Argentyna	Typ 021N, <i>Thiothrix</i> I, <i>Sphaerotilus natans</i> , <i>Microthrix parvicella</i> , <i>Nocardia</i> spp., Typ 1701, Typ 1863, Typ 0041, Typ 0092
3.	Europa	Czechy	<i>Microthrix parvicella</i> , Typ 0092
		Dania	<i>Microthrix parvicella</i> , Typ 0041/0675, Typ 021N, Typ 0092, Typ 0914, Typ 1851
		Francja	<i>Thiothrix</i> spp., Typ 021N, <i>Haliscomenobacter hydrossis</i> , Typ 0092, <i>Nostocoida limicola</i> , Typ 0041, Typ 0803, <i>Microthrix parvicella</i> , <i>Nocardia</i> spp., Typ 1701
		Niemcy	<i>Microthrix parvicella</i> , Typ 1701, Typ 0041/ 0675, Typ 0092
		Wielka Brytania	<i>Microthrix parvicella</i> , Typ 021N, <i>Nostocoida limicola</i> ,
	Włochy	<i>Microthrix parvicella</i> , Typ 0092, Typ 0041, Typ 0675	
4.	Afryka Pd.	Durban	Typ 0041/0675, <i>Haliscomenobacter hydrossis</i> , <i>Nostocoida limicola</i> , Typ 021N, Typ 1851, <i>Sphaerotilus natans</i> , <i>Microthrix parvicella</i> , Typ 1863, Typ 0092
5.	Azja	Japonia	Typ 021N, <i>Sphaerotilus natans</i> , Typ 0041/0675, <i>Thiothrix</i> spp.
6.	Oceania	Australia	<i>Microthrix parvicella</i> , Typ 0041/0675, Typ 0092, <i>Haliscomenobacter hydrossis</i>

Źródło: opracowanie na podstawie [5, 15, 32, 35, 36, 45, 57]

Zakłócenia pracy w oczyszczalniach ścieków w Polsce, spowodowane nadmiernym rozwojem bakterii nitkowatych są także przedmiotem badań, ale nie ma na ten temat tak wielu opracowań jak w innych krajach [9, 13, 17, 41, 50, 59, 60].

W kraju, w wielu oczyszczalniach ścieków, problemy związane z zaburzeniami w pracy osadu występują szczególnie często na przełomie okresu jesień-zima oraz zima-wiosna. W tych okresach ścieki często bywają rozcieńczane przez zwiększone ilości wód opadowych – jesienią lub wód roztopowych – wiosną. Zestawienie mikroorganizmów, odpowiedzialnych za zakłócenia w pracy kilku krajowych oczyszczalni ścieków, przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

**Organizmy nitkowate zidentyfikowane jako przyczyny pienienia
w wybranych oczyszczalniach ścieków w Polsce**

Lp.	Oczyszczalnia	Zidentyfikowane organizmy nitkowate	Liczebność ogólna*
1.	Centralna oczyszczalnia ścieków Częstochowa	<i>Microthrix parvicella</i> <i>Gordonia amarae</i> <i>Nostocoida limicola</i> II Typ 1701 Typ 0041	5
2.	Oczyszczalnia ścieków Gdańsk-Wschód	<i>Microthrix parvicella</i> <i>Nostocoida limicola</i> Typ 021N forma sinicopodobna	5
3.	Oczyszczalnia ścieków Opole	<i>Microthrix parvicella</i> Typ 1701 <i>Nostocoida limicola</i> Typ 0041 <i>Nocardia</i> sp.	5
4.	Oczyszczalnia ścieków Słupsk	<i>Microthrix parvicella</i> <i>Nostocoida limicola</i>	4
5.	Oczyszczalnia ścieków „Czajka” Warszawa	<i>Microthrix parvicella</i> Typ 0041 Typ 1851 Typ 021N	4

* zgodnie z kategoriami przyjętymi przez Eikelboom'a
Źródło: opracowanie na podstawie [13, 17, 50, 59, 60]

We wszystkich pięciu krajowych oczyszczalniach ścieków, dominującym mikroorganizmem, odpowiedzialnym w głównej mierze za zakłócenia pracy oczyszczalni, był szczep *Microthrix parvicella*, natomiast drugim gatunkiem, który był obecny prawie we wszystkich oczyszczalniach, był *Nostocoida limicola*. Ogólna liczebność mikroorganizmów nitkowatych w poszczególnych obiektach została oceniona w zakresie 4–5. Wyniki te są zgodne z danymi z innych krajów Europy, gdzie właśnie szczep *Microthrix parvicella* jest uznawany za główny czynnik pianotwórczy.

Porównanie wyników identyfikacji mikroflory nitkowatej, odpowiedzialnej za powstawanie piany i zakłóceń w pracy w krajowych oczyszczalniach ścieków, wykazało, że dominującym szczepem był *Microthrix parvicella*, podobnie jak w oczyszczalniach ścieków w innych krajach Europy, a przeciwnie niż w USA, Australii, jak też w Japonii, gdzie pienienie było skutkiem rozwoju bakterii z rodzaju *Nocardia* lub szczepów *Nocardia*-podobnych.

3. Wnioski

Mimo stale prowadzonych badań i coraz lepszego poznania bakterii nitkowatych, ich metabolizmu i fizjologii, puchnięcie osadu jest nadal problemem w biologicznych oczyszczalniach ścieków. Co więcej, nie zawsze jest możliwe zapobieżenie czy szybkie zlikwidowanie skutków ich nadmiernego rozwoju.

Nie do końca są wyjaśnione mechanizmy działania środków stosowanych do zwalczania bakterii nitkowatych w osadzie czynnym. Dlatego też w dalszym ciągu poszukuje się dobrych wskaźników lub metod bieżącej kontroli dynamiki namnażania się mikroorganizmów nitkowatych w osadzie czynnym.

Jednym z dominujących podejść w poszukiwaniu rozwiązania problemu puchnięcia osadu czynnego jest droga poprzez identyfikację bakterii nitkowatych występujących w spęczniałym osadzie. Druga droga poszukiwań prowadzi poprzez szczegółowe poznanie budowy komórek bakterii nitkowatych i próbę znalezienia ogólnego rozwiązania problemu bez identyfikacji gatunku bakterii.

Wykorzystanie technik biologii molekularnej (PCR, FISH) pozwala na poznanie filogenezy tych bakterii oraz ich identyfikację. Obiecujące wydają się także metody komputerowej analizy obrazu, stosowane do monitoringu rozwoju tych bakterii w osadzie czynnym.

Niezależnie od wyboru drogi rozwiązanie problemu wymaga połączenia wiedzy mikrobiologicznej z technologiczną w tym zakresie.

Literatura

- [1] Alavi M.M.R., Guan Y., Satoh H., Mino T., *Performance of microbial dynamics in the coars pore filtration activated sludge process at different SRTs (solid retention times)*, Water Sci. Technol., 2003, 47, 12, 73-80.
- [2] Albertson O.E., Hendricks P., *Bulking and foaming organism control at Phoenix, AZ WWTP*, Water Sci. Technol., 1992, 26, 3-4, 461-472.
- [3] Barbusiński K., Kłós M., *Zastosowanie nowoczesnych technik pomiarowych do badań charakterystyki kłaczków osadu czynnego*, Biotechnologia, 3, 1997.
- [4] Bazeli M., *Mikroorganizmy osadu czynnego – klucz*, Gdańska Fundacja Wody, Gdańsk 2001.
- [5] Bergeron J., Pelletier C., *Occurrence and significance of filamentous bacteria in pulp and paper activated sludge systems*, Water Sci. Technol., 2004, 50, 3, 39-48.
- [6] Buraczewski G., *Biotechnologia osadu czynnego*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1994.
- [7] Cenens C., Jenné R., Van Impe J.F., *Evaluation of different shape parameters to distinguish between flocs and filaments in activated sludge images*, Water Sci. Technol. 2002, 45, 4-5, 85-91.
- [8] Cenens C., Van Beurden K.P., Jenné R., Van Impe J.F., *On the development of a novel image analysis technique to distinguish between flocs and filaments in activated sludge image*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 381-387.
- [9] Chmielewski K., *Koagulanty PIX i PAX modyfikowane polielektrolitami. Własności i aplikacje* (www.kemipol.com.pl/pdf/wrzesień_2003/10chmielewski.pdf).

- [10] Contreras E.M., Giannuzzi L., Zaritzky N.E., *Use of image analysis in the study of competition between non-filamentous and filamentous bacteria*, Water Res. 2004, 38, 2621-2630.
- [11] Eikelboom D.H., van Buijsen H.J.J., *Podręcznik mikroskopowego badania osadu czynnego*, Wyd. Seidel-Przywecki, Szczecin 1999.
- [12] Ellis T.G., Elisosov B., Schmit C.G., Jahan K., Park K.Y., *Activated sludge and other aerobic suspended culture processes*, Water Environ. Res. 2002, 74, 4, 385-410.
- [13] Ferenc Z., Fronczak W., Sudoł J., *Zastosowanie PIX-u i PAX-u modyfikowanego (blend) w oczyszczalni ścieków „Czajka” w Warszawie do zwalczania bakterii nitkowatych*, www.kemipol.com.pl/pdf/wrzesień_2003/17ferenc.pdf
- [14] Fiałkowska E., Fyda J., Pajdak-Stós A., Wiąckowski K., *Osad czynny – biologia i analiza mikroskopowa*, Wydawnictwo Seidel-Przywecki, Józefosław 2010.
- [15] Fourest E., Craperi D., Deschamps-Roupert C., Pisicchio J.-L., Lenon G., *Occurrence and control of filamentous bulking in aerated wastewater treatment plants of the French paper industry*, Water Sci. Technol., 2004, 50, 3, 29-37.
- [16] Gaval G., Duchène P., Pernelle J.-J., *Filamentous bacterial population dominance in activated sludges subject to stresses*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 49-53.
- [17] Gielert M., Kubicka-Formela U., *Zastosowanie PAX-16 do zwalczania puchnięcia i pienienia osadu czynnego w wielofazowych reaktorach oczyszczalni ścieków*, Gdańsk–Wschód ([www.kemipol.com.pl/pdf/Art13 %20M.GIELERT](http://www.kemipol.com.pl/pdf/Art13_%20M.GIELERT)).
- [18] Govoreanu R., Seghers D., Nopens I., De Clercq B., Saveyn H., Capalozza C., Van der Meeren P., Verstraete W., Top E., Vanrolleghem P.A., *Linking floc structure and settling properties to activated sludge population dynamics in an SBR*, Water Sci. Technol., 2003, 47, 12, 9-18.
- [19] Grady C.P.L., Daigger G.T., Lim H.C., *Biological wastewater treatment*, Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong 1999.
- [20] Henze M., van Loosdrecht M.C.M., Ekama G.A., Brdjanovic D., *Biological Wastewater Treatment. Principles, Modeling and Design*, IWA Publishing, London 2008.
- [21] Jenné R., Banadda E.N., Smets I.Y., Van Impe J.F., *Monitoring activated sludge settling properties using image analysis*, Water Sci. Technol., 2004, 50, 7, 281-285.
- [22] Kalisz L., Kazimierczuk M., *Organizmy osadu czynnego – badania mikroskopowe*, IKS, Warszawa 1998.
- [23] Kim S.B., Goodfellow M., Kelly J., Saddler G.S., Ward A.C., *Application of oligonucleotide probes for the detection of *Thiothrix* spp. in activated sludge plants treating paper and board mill wastes*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 559-564.
- [24] Klimiuk E., Łebkowska M., *Biotechnologia w ochronie środowiska*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2004.
- [25] Klimowicz H., *Znaczenie mikrofauny przy oczyszczaniu ścieków osadem czynnym*, IOŚ, Warszawa 1989.

- [26] Kohno T., Sei K., Mori K., *Characterization of type 1851 organism isolated from activated sludge samples*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 111-114.
- [27] Kunst S., Helmer C., Knoop S., *Betriebsprobleme auf Klärungen durch Blähschlamm, Schwimmschlamm, Schaum*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 2000.
- [28] Lemmer H., Lind G., Müller E., Schade M., Ziegelmayr B., *Scum in activated sludge plants: Impact of non-filamentous and filamentous bacteria*, Acta Hydrochim. Hydrobiol., 2000, 28, 1, 34-40.
- [29] Lemmer H., Müller E., Schade M., *Scum in nutrient removal plants: The role of carbon sources in "Microthrix parvicella" growth*, Acta Hydrochim. Hydrobiol., 2003, 30, 4, 207-211.
- [30] Lemmer H., Popp W., *Przyczyny powstawania i zwalczanie osadu spęczniałego*, Wyd. Seidel-Przyzwecki, Szczecin 2000.
- [31] Lin H., Ong S.L., Ng W.J., Khan E., *Monitoring of bacterial morphology for controlling filamentous overgrowth in an ultracompact biofilm reactor*, Water Environ. Res., 2004, 76, 5, 413-424.
- [32] Loy A., Daims H., Wagner M., *Activated Sludge: Molecular techniques for determining community composition*, [w:] *The Encyclopedia of Environmental Microbiology*, 26-43, (Bitton G, ed.), Wiley, New York 2002.
- [33] Madoni P., Davoli D., Gibin G., *Survey of filamentous microorganisms from bulking and foaming activated-sludge plants in Italy*, Water Res., 2000, 34, 1767-1772.
- [34] Martins A.M.P., Heijnen J.J., van Loosdrecht M.C.M., *Bulking sludge in biological nutrient removal systems*, Biotechnol. Bioeng., 2004, 86, 2, 125-135.
- [35] Martins A.M.P., Pagilla K., Heijnen J.J., van Loosdrecht M.C.M., *Filamentous bulking sludge – a critical review*, Water Res., 2004, 38, 793-817.
- [36] Marzio W.D., *First results from a screening of filamentous organisms present in Buenos Aires's activated sludge plants*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 119-122.
- [37] *Mikroskopowa analiza i ocena biologicznych procesów oczyszczania ścieków (praca zbiorowa, tłumacz. z j. niemieckiego)*, Gdańska Fundacja Wody, Gdańsk 2004.
- [38] Motta M., Pons M.N., Roche N., *Study of filamentous bacteria by image analysis and relation with settleability*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 363-369.
- [39] Motta M., Pons M.N., Roche N., *Monitoring filamentous bulking in activated sludge systems fed by synthetic or municipal wastewater*, Bioprocess Biosys. Eng., 2003, 25, 6, 387-393.
- [40] Nielsen P.H., Thomsen T.R., Nielsen J.L., *Bacterial composition of activated sludge – importance for floc and sludge properties*, Water Sci. Technol., 2004, 49, 10, 51-58.
- [41] *Opis technologiczny oczyszczalni ścieków w Złotoryi* (www.rpk.pl/oczyszczalnia.php).
- [42] Parker D., Appleton R., Bratby J., Melcer H., *North American performance experience with anoxic and anaerobic selectors for activated sludge bulking control*, Water Sci. Technol., 2004, 50, 7, 221-228.
- [43] Parker D., Geary S., Jones G., McIntyre L., Oppenheim S., Pedregon V., Pope R., Richards T., Voigt C., Volpe G., Willis J., Witzgall R., *Making classifying selectors work for foam elimination in the activated-sludge process*, Water Environ. Res., 2003, 75, 1, 83-91.

- [44] Peng Y., Gao C., Wang S., Ozaki M., Takigawa A., *Non-filamentous sludge bulking caused by a deficiency of nitrogen in industrial wastewater treatment*, Water Sci. Technol., 2003, 47, 11, 289-295.
- [45] Ramothokang T.R., Drysdale G.D., Bux F., *Isolation and cultivation of filamentous bacteria implicated in activated sludge bulking*, Water SA 2003, 29, 4, 405-410.
- [46] Schade M., Beimfohr C., Lemmer H., *Phylogenetic and physiological characterization of a "Nostocoida limicola" – like organism isolated from activated sludge*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 91-97.
- [47] Seviour R.J., Liu J.-R., Seviour E.M., McKenzie C.A., Blackall L.L., Saint C.P., *The "Nostocoida limicola" story: resolving the phylogeny of this morphotype responsible for bulking in activated sludge*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 105-110.
- [48] Snajdr J., Beimfohr C., Levantesi C., Rossetti S., van der Waarde J., Geurkink B., Eikelboom D., Lemaitre M., Tandoi V., *Phylogenetic analysis and in situ identification of "Nostocoida limicola" – like filamentous bacteria in activated sludge from industrial wastewater treatment plants*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 99-104.
- [49] South B., *Kontrola indeksu i pienienia osadu w reaktorach biologicznych*, Materiały Seminarium TEMPUS-PHARE pt.: „Doskonalenie eksploatacji biologicznych oczyszczalni ścieków”, Kraków 9–10.09.1996, 39-44.
- [50] Szczepankiewicz M., Łada L., *Doświadczenia w zwalczaniu bakterii nitkowatych przy użyciu PAX-18 w oczyszczalni ścieków w Opolu* (www.kemipol.com.pl/pdf/wrzesień_2003/14szczepankiewicz.pdf).
- [51] Tampus M.V., Martins A.M.P., van Loosdrecht M.C.M., *The effect of anoxic selectors on sludge bulking*, Water Sci. Technol., 2004, 50, 6, 261-268.
- [52] Tixier N., Guibaud G., Baudu M., *Rheology measurement for on-line monitoring of filaments proliferation in activated sludge tanks*, Water Sci. Technol., 2004, 49, 1, 15-21.
- [53] Traczewska M., *Biotyczne i abiotyczne uwarunkowania pęcznienia osadu czynnego*, Ochrona Środowiska 1997, 65, 2, 29-32.
- [54] Waarde J., Krooneman J., Geurkink B., van der Werf A., Eikelboom D., Beimfohr C., Snajdr J., Levantesi C., Tandoi V., *Molecular monitoring of bulking sludge in industrial wastewater treatment plants*, Water Sci. Technol., 2002, 46, 1-2, 551-558.
- [55] Wachowicz M., *Zwalczanie bakterii nitkowato-siarkowych, wspomaganie biologicznego oczyszczania ścieków celulozowo-papierniczych koagulantami PIX i PAX* (www.old.kemipol.com.pl/img/pdf/dzwirzyno/art20%/2007.pdf).
- [56] Wandl G., Matsché N., Bayer H., *A new side stream process for easily degradable industrial waste waters to avoid sludge bulking*, Water Sci. Technol., 2004, 50, 7, 229-236.
- [57] Wanner J., *Activated sludge bulking and foaming control*, Technomic Co. Inc., Lancaster–Basel 1994.
- [58] Westlund A., Hagland E., Rothman M., *Bulking and foaming caused by Microthrix parvicella at three large sewage treatment plants in the Greater Stockholm area*, Water Sci. Technol., 1996, 34, 281-287.

- [59] Wójcik-Szwedzińska M., *Badania populacji bakterii nitkowatych w osadzie czynnym*, Inżynieria i Ochrona Środowiska 2003, 6, 1, 17-26.
- [60] Wójtowicz A., *Sprawozdanie z doświadczeń eksploatacyjnych zwalczania puchnięcia i pienienia osadu czynnego z użyciem blendu PIX 1392-2* (www.kemipol.com.pl/pdf/Art09%20Andrzej%20W%F3jtowicz.pdf).
- [61] ENVIRONMENTAL LEVERAGE (www.environmentalleverage.com/Microthrix_Parvicella.htm&usg).