

Agnieszka Rusin*, Alicja Machnicka**

KAWITACJA ULTRADŹWIĘKOWA W HIGIENIZACJI OSADU CZYNNEGO NADMIERNEGO

Streszczenie

Skuteczność procesu dezintegracji wynika z fizycznych lub chemicznych metod destrukcji ściany komórkowej, co w konsekwencji prowadzi do jej fragmentacji i uwalniania wewnątrzkomórkowych substancji do otaczającej fazy płynnej. W technologii osadów ściekowych pozytywne efekty dezintegracji uzyskuje się przez stosowanie: mechanicznej destrukcji, ultradźwięków, obróbki cieplnej, dodawania enzymów, ozonowania, chemicznego rozkładu przez zakwaszanie lub hydrolizę alkaliczną.

Celem wykonanych badań było wykazanie możliwości zastosowania ultradźwięków do bakteriologicznej higienizacji osadu czynnego nadmiernego. Potwierdzeniem skuteczności bakteriobójczego działania kawitacji ultradźwiękowej była liczba bakterii rosnących na agarach przed i po procesie higienizacji.

Do badań zostały użyte podłoża podstawowe i selektywne. Hodowla kultur bakteryjnych trwała 24 i 48 godzin. Po czasie inkubacji kultury zostały policzone i poddane wstępnej identyfikacji. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono redukcję ogólnej liczby bakterii i patogennych bakterii należących do rodziny *Enterobacteriaceae* i chorobotwórczych z rodzaju *Staphylococcus*. Przy częstotliwości fali ultradźwiękowej 40 kHz redukcja bakterii *Salmonella* wynosiła 94%, a przy 25 kHz 89%.

W przeprowadzonych procesach została potwierdzona dyspersja fazy stałej i zniszczenie komórek bakterii patogennych.

Ultrasonic cavitation in hygienization surplus activated sludge

Abstract

The success of an effective process of disintegration is the application of physical or chemical methods of the destruction of the cell wall which consequently becomes fragmented and the intracellular matters are released into the surrounding liquid.

From the used methods of disintegration in the technology of sewage sludge positive results are achieved by: mechanical destructions, ultrasounds, heat treatments, adding of enzymes, ozone treatment, chemical dissolution by acidification or alkaline hydrolysis.

The purpose of the conducted experiments was to demonstrate possibilities of application of the ultrasonic in the bacteriological hygienisation of surplus activated sludge. The confirmation of the effectiveness of the bactericidal activity of ultrasonic cavitation was the number of bacteria grown on agars before and after hygienisation process.

Selective and basic beddings have been used in the research. The bacterial culture has lasted approximately 24 to 48 hours. After the period of incubation the colonies produced have been counted and initially identified.

Based on the microbiological analyses a significant reduction in an overall number of bacteria and pathogenic bacteria belonging to the family *Enterobacteriaceae* and to the pathogenic species *Staphylococcus* has been noticed. Reducing the number of *Salmonella* bacteria was 94% at a frequency ultrasonic waves of 40 kHz and 89% at 25 kHz.

* Śląskie Środowiskowe Studium Doktoranckie

** Akademia Techniczno-Humanistyczna, Instytut Ochrony i Inżynierii Środowiska, Bielsko-Biała

In the conducted processes of disintegration the dispersion of a solid phase of the sediment and also the destruction of pathogenic bacteria cells has been confirmed.

1. WPROWADZENIE

Ścieki i osady ściekowe, poza materią w postaci zawieszin łatwo opadających i nieopadających, koloidów i związków rozpuszczonych, zawierają zanieczyszczenia biologiczne. Są to organizmy żywe, takie jak: wirusy, bakterie, promieniowce, pierwotniaki, grzyby oraz helminty.

Ocena stanu sanitarnego osadów polega na pośrednim wnioskowaniu o zawartości bakterii chorobotwórczych oraz jaj pasożytów jelitowych na podstawie tzw. wskaźnika sanitarnego. Do niedawna gatunkiem traktowanym jako wskaźnik sanitarny wśród bakterii była pałeczka laktozododatnia *Escherichia coli*. Obecnie na podstawie Rozporządzenia Ministra Środowiska (Dz.U. z 2010 Nr 137, poz. 924) w ocenie sanitarnej wykorzystuje się nowy wskaźnik, którym jest *Salmonella* spp. Rola pałeczek *Salmonella* spp. i *Shigella* spp. w patogenezie zakażeń ludzi, w ostatnich latach, znacznie wzrosła. Bakterie rodzaju *Salmonella* są przyczyną 86% spotykanych gastroenteritis (Bień 2007).

Liczebność drobnoustrojów chorobotwórczych można ograniczyć przez stosowanie utylizacji osadów: chemicznej stabilizacji, kompostowania, termofilowej stabilizacji tlenowej, fermentacji metanowej, pasteryzacji, dezaktywacji radiacyjnej (Miksch red. 2010).

Niebezpieczeństwo zakażenia środowiska przyrodniczego patogenami pochodzącymi z osadów ściekowych zmusza jednak do poszukiwania metod w celu poprawienia ich stanu sanitarnego. Niektóre metody stosowane w biotechnologii ścieków, takie jak: promieniowanie mikrofalowe (Kennedy, Thibault, Droste 2007), energia ultradźwięków (Zhang P., Zhang G., Wang 2007; Wang, Lu, Ji 2006), homogenizacja mechaniczna (Müller 2000), ciśnienie (Grübel, Machnicka 2009), ozonowanie (Weemaes i in. 2000), enzymy (Roman, Burgess, Pletschke 2006) służą do dezintegracji osadów ściekowych. Dezintegracja jest procesem powodującym niszczenie struktury osadów, w wyniku którego następuje dyspersja cząstek osadu oraz liza komórek mikroorganizmów. Proces ten powoduje: zmiany fizyczno-chemiczne osadów, zmiany właściwości reologicznych, podatność na procesy biodegradacji związków i zmiany właściwości filtracyjnych.

Procesy dezintegracji znalazły zastosowanie między innymi we wspomaganiu procesów stabilizacji osadów nadmiernych, intensyfikacji fermentacji metanowej, usuwania związków biogennych, zanieczyszczeń specyficznych, zmniejszania ilości pozostałych do zagospodarowania osadów w oczyszczalniach ścieków czy niszczenia bakterii nitkowatych (Żeglin-Kurbiel, Banaś, Cimochoicz-Rybicka 2003; Machnicka, Grübel, Suschka 2009; Zielewicz 2007; Klimiuk, Łebkowska 2004).

Jedną z metod dezintegracji osadów ściekowych jest stosowanie kawitacji ultradźwiękowej. Kawitacją nazywa się zjawisko wywołane zmiennym polem ciśnień w cieczy. Polega ono na powstawaniu, wzroście i zanikaniu pęcherzyków lub innych obszarów zamkniętych (kawern) zawierających parę danej cieczy, gaz lub mieszaninę parowo-gazową. Pęcherzyki te zwiększają swoją objętość na obszarach niskiego ciś-

nienia, poniżej jego krytycznej wartości i zmniejszają objętość w obszarach podwyższonego ciśnienia, powyżej wartości krytycznej. Wartość ciśnienia krytycznego zależy od rodzaju, stanu cieczy, obecności ośrodków kawitacji i jest zbliżona do wartości ciśnienia pary nasyconej (Bębenek B., Bębenek H. 1987; PN-86/H-04426).

Zastosowanie pola ultradźwiękowego powoduje kawitację akustyczną zachodzącą na skutek powstawania pęcherzyków próżniowych w cieczy dezintegrowanych mediów pod wpływem natężenia ultradźwięków. Uszkodzenie kohezyjnej struktury makromolekuł cieczy wywołuje powstawanie pęcherzyków kawitacyjnych, których implozja powoduje (Wolny, Kamizela 2003; Burka 2001; Mitosek 2002) wysokie mechaniczne naprężenia tnące (ścinające), tworzenie rodników H^+ i $OH^\bullet$, przemiany chemiczne związków organicznych oraz termiczny rozkład substancji hydrofobowych, zwłaszcza lotnych (Onyeche i in. 2002; Schläfer i in. 2002).

Celem przeprowadzonych badań była próba wykazania wpływu kawitacji ultradźwiękowej na poprawę stanu sanitarnego osadu czynnego nadmiernego.

2. MATERIAŁ I METODA BADAŃ

Materiałem do badań był osad nadmierny z oczyszczalni, w której jest stosowane zaawansowane biologiczne oczyszczanie ścieków, polegające na symultanicznym usuwaniu związków organicznych oraz biogenów, azotu i fosforu. Oczyszczalnia przyjmuje 90 000 m³ ścieków na dobę, czas zatrzymywania ścieków wynosi 14 dni, a stężenie osadu czynnego w bioreaktorze około 4500 mg/dm³.

Próbki osadu nadmiernego, do badań, pobierano czerpakiem, do szklanych wysterylizowanych (w autoklawie) zamykanych pojemników. Pobrany materiał po dostarczeniu do laboratorium – od 15 do 45 minut od momentu pobrania – wysiewano na podłoża hodowlane, bez poddawania go procesowi higienizacji ultradźwiękowej i po procesie higienizacji.

Liczbę bakterii oznaczono metodą hodowlaną. Ze względu na spodziewany stopień zanieczyszczenia próbek, charakteryzujący się dużą liczebnością bakterii, przed posiewem badany osad rozcieńczano w roztworze soli fizjologicznej. Wykonano rozcieńczenia od 10^{-1} do 10^{-10} .

Liczebność bakterii w 1 cm³ osadu czynnego nadmiernego wyliczono według PN-EN ISO 6222:2004.

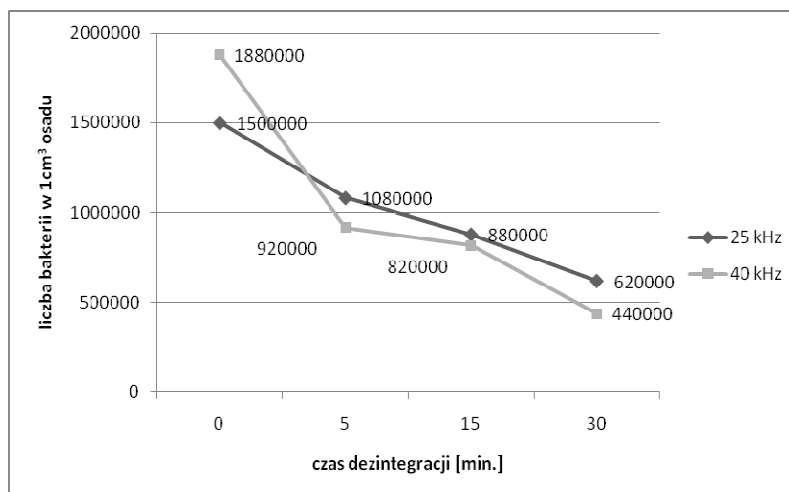
Przedstawiona graficznie liczebność bakterii w 1 cm³ osadu nadmiernego przed i po procesie higienizacji ultradźwiękowej była średnią arytmetyczną z pięciu serii badawczych. W każdej serii badawczej wykonano dziesięć powtórzeń oznaczeń ilości drobnoustrojów.

Jako podłoże hodowlane wykorzystano agar odżywczy (wzbogacony), Mac Conkey'a, SS, Chapmana. Zastosowano metodę posiewu powierzchniowego eż i płytek tartych. Inkubację prowadzono w temperaturze 37°C w czasie 24 godzin. Przynależność taksonomiczną gatunków bakterii określono na podstawie kryteriów ustalonych przez Bergey's Manual Trust (Holt i in. 1994). Ponadto, przy identyfikacji uwzględniono cechy morfologiczne kolonii wyrosłych na zastosowanych podłożach.

Do higienizacji osadu czynnego nadmiernego zastosowano pole ultradźwiękowe o częstotliwości 25 i 40 kHz.

3. Dyskusja wyników badań

Zastosowane w badaniach fale ultradźwiękowe o częstotliwości 25 i 40 kHz powodowały niszczenie struktury mikroorganizmów osadu nadmiernego i ich śmierć. Wraz z wydłużaniem czasu higienizacji ultradźwiękowej i wzrostem częstotliwości malała liczba bakterii osadu poddanego dezintegracji. Ogólna liczba bakterii w 1 cm³ osadu nadmiernego, poddanego higienizacji ultradźwiękami o częstotliwości drgań 25 kHz, uległa zmniejszeniu o 59%, a przy 40 kHz – o 77% (rys. 1).

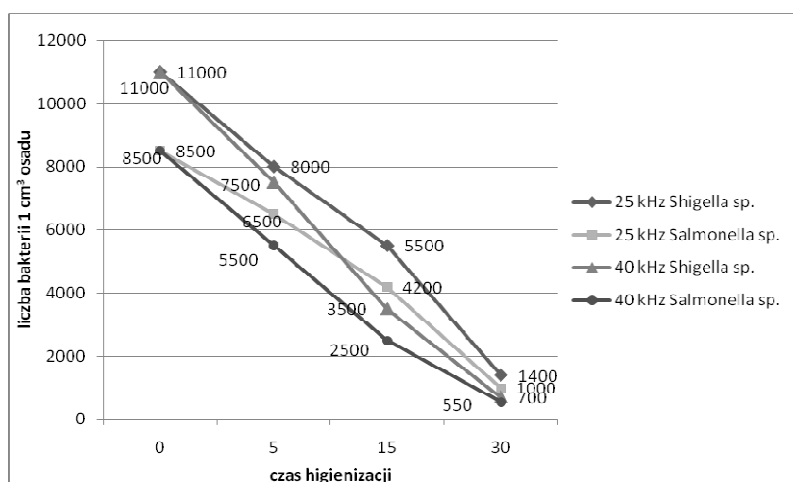


Rys. 1. Ogólna liczba bakterii w 1 cm³ osadu nadmiernego przed i po procesie higienizacji ultradźwiękowej

Fig. 1. Total number of bacteria in 1 cm³ of excessive sediment before and after ultrasonic hygienization

Pole ultradźwiękowe działało niszcząco na bakteryjny wskaźnik oceny sanitarnej osadu ściekowego. Liczba bakterii z rodzaju *Salmonella* uległa redukcji w 1 cm³ osadu nadmiernego o 89%, przy częstotliwości fal 25 kHz, a przy częstotliwości 40 kHz o 94% (rys. 2).

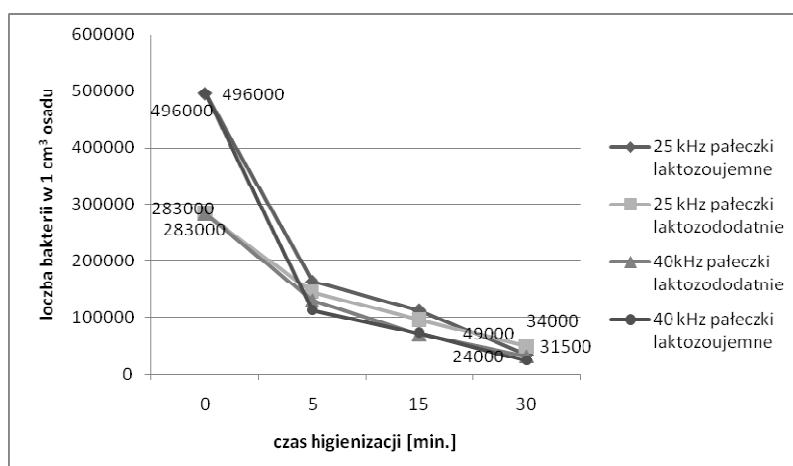
Kawitacja akustyczna spowodowała zmniejszenie liczby pałeczek *Shigella* spp. o 88% przy natężeniu fal 25 kHz i o 94% przy 40 kHz (rys. 2). W osadzie nadmiernym spowodowała również zmniejszenie liczebności pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* (rys. 2).



Rys. 2. Liczba pałeczek z rodzaju *Salmonella* i *Shigella* w 1 cm³ osadu nadmiernego przed i po procesie higienizacji ultradźwiękowej

Fig. 2. Number of bacilli of the genus *Salmonella* and *Shigella* in 1 cm³ of excessive sediment before and after ultrasonic hygienization

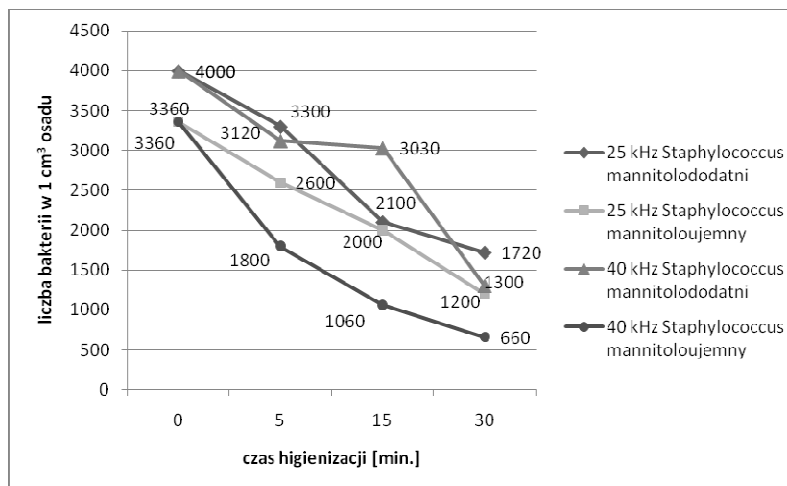
Liczba bakterii laktozoujemnych w 1 cm³ osadu zmniejszyła się z około 500 000 do 34 000 przy zastosowaniu fal o częstotliwości 25 kHz i do 24 000 przy częstotliwości 40 kHz (rys. 3). Uległa również zmianie liczebność w 1 cm³ osadu pałeczek laktozododatnich, do których zalicza się *E. coli*. Kawitacja akustyczna (25 kHz) spowodowała redukcję liczebności tych bakterii z około 280 000 do 49 000 i 21 500 przy 40 kHz, czyli odpowiednio o 83% i 89% (rys. 3).



Rys. 3. Liczba pałeczek laktozododatnich i laktozoujemnych w 1 cm³ osadu nadmiernego przed i po procesie higienizacji ultradźwiękowej

Fig. 3. Number of bacilli lactose-positive and lactose-negative in 1 cm³ of excessive sediment before and after ultrasonic hygienization

Proces higienizacji ultradźwiękowej przyczynił się także do redukcji bakterii z rodzaju *Staphylococcus* zarówno tych chorobotwórczych dla człowieka (mannitolododatnich), jak i niechorobotwórczych (mannitoloujemnych). Pole ultradźwiękowe o częstotliwości 25 kHz zniszczyło 57% ziarniaków mannitolododatnich i 65% mannitoloujemnych (rys. 4). Przy częstotliwości fali 40 kHz całkowitej destrukcji uległo 68% gronkowców mannitolododatnich i 85% mannitoloujemnych (rys. 4).



Rys. 4. Liczba bakterii *Staphylococcus* spp. w 1 cm³ osadu nadmiernego przed i po procesie higienizacji ultradźwiękowej

Fig. 4. Number of bacteria *Staphylococcus* spp. in 1 cm³ of excessive sediment before and after ultrasonic hygienization

Zastosowanie pola ultradźwiękowego do higienizacji osadu nadmiernego spowodowało znaczącą redukcję bakterii, w tym wskaźnika oceny sanitarnej osadów ściekowych, pałeczek *Salmonella* spp. o 94%.

Częstotliwość drgań 20 kHz i powyżej, jak podają Kotełko, Siedlaczek i Lachowicz (1979), wywiera silne działanie na układy biologiczne, powodując zmiany w komórkach, prowadzące do ich zniszczenia. Śmierć bakterii przez lizę komórek pod wpływem ultradźwięków o odpowiedniej częstotliwości jest funkcją logarymiczną czasu ich działania. Ultradźwięki działają niszcząco na drobnoustroje tylko w środowiskach płynnych, a działanie zależy od ich częstotliwości, czasu, środowiska życia, rodzaju i postaci mikroorganizmów (forma wegetatywna, przetrwalnik, zarodnik) oraz wieku hodowli. Bardziej wrażliwe są hodowle młode, ale każdy drobnoustrój charakteryzuje się inną wrażliwością związaną z czasem działania przy danej częstotliwości fal ultradźwiękowych. Występują, bowiem znaczne różnice we wrażliwości między rodzajami drobnoustrojów, a nawet poszczególnymi gatunkami w obrębie rodzajów. Bakterie Gram-ujemne są bardziej wrażliwe na ultradźwięki niż Gram-dodatnie. Ultradźwięki działają również na drożdże i drożdżaki, nie niszczą natomiast grzybów, przetrwalników i prątków (Dobrzański red. 1980). Działanie na wirusy jest słabe, chociaż obserwacje przynoszą rozbieżne wyniki. Zawartość w środowisku niektórych

związków, na przykład kazeiny, żelatyny, zwiększa odporność mikroorganizmów na niszczące działanie ultradźwięków.

4. WNIOSKI

1. Metoda dezintegracji ultradźwiękowej przyczyniła się do zmniejszenia liczebności bakterii chorobotwórczych, a tym samym do higienizacji osadu czynnego nadmier nego.
2. Redukcja liczebności bakterii z rodzaju *Salmonella* wyniosła 94%, przy częstotliwości fal ultradźwiękowych 40 kHz i 89% przy 25 kHz.
3. Zmiana liczebności bakterii zależała nie tylko od częstotliwości fal ultradźwiękowych, lecz także od czasu ich działania.

Literatura

1. Bień J. (2007): Osady ściekowe. Teoria i praktyka. Częstochowa, Wydaw. Politechniki Częstochowskiej.
2. Bębenek B, Bębenek H. (1987): Straty energii w przepływach płynów. Skrypt Politechniki Krakowskiej, t. I. Kraków, Politechnika Krakowska.
3. Burka E.S. (2001): Zagadnienia fizyki kawitacji. Zeszyty Naukowe Politechniki Białostockiej. Budowa i Eksploatacja Maszyn nr 8, s. 43–50.
4. Dobrzański W.T. [red.] (1980): Zarys mikrobiologii dla farmaceutów. Warszawa, PZWL.
5. Grübel K., Machnicka A. (2009): The use hydrodynamic disintegration to accelerate anaerobic digestion of surplus activated sludge. Water Environment Research No 81, s. 1–7.
6. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Stanley J.T.W. (1994): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. Tokyo, Williams and Wilkins.
7. Kennedy K.J., Thibault G., Droste R.L. (2007): Microwave enhanced digestion of aerobic SBR sludge. Water SA Vol. 33, No 2, s. 261–270.
8. Klimiuk E., Łebkowska M. (2004): Biotechnologia w ochronie środowiska. Warszawa, PWN.
9. Kotełko K., Siedlaczek L., Lachowicz T.M. (1984): Biologia bakterii. Warszawa, PWN.
10. Machnicka A., Grübel K., Suschka J. (2009): The use hydrodynamic disintegration as means to improve anaerobic digestion of activated sludge. Water SA No 35, s. 129–132.
11. Mitosek M. (2002): Zjawisko kawitacji początkowej. Prace Naukowe Politechniki Warszawskiej. Inżynieria Środowiska nr 42, s. 31–42.
12. Miksch K. [red.] (2000): Biotechnologia ścieków. Gliwice, Politechnika Śląska.
13. Müller J. (2000): Disintegration as key-stop in sewage sludge treatment. Water Science and Technology Vol. 41, s. 123–139.
14. Onyeche T.I., Schläfer O., Bormann H., Schröder C., Sievers M. (2002): Ultrasonic cell disruption of stabilised sludge with subsequent anaerobic digestion. Ultrasonics Vol. 40, s. 31–35.
15. PN-86/H-04426 Erozja kawitacyjna – Nazwy, określenia i symbole.
16. Roman H.J., Burgess J.E., Pletschke B.I. (2006): Enzyme treatment to decrease solids and improve digestion of primary sewage sludge. African Journal of Biotechnology Vol. 5, s. 963–967.
17. Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 13 lipca 2010 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych. Dz.U. Nr 137, poz. 924.

18. Schläfer O., Onyeche T., Bormann H., Schröder C., Sievers M. (2002): Ultrasound stimulation of microorganisms for enhanced biodegradation. *Ultrasonic* Vol. 40(1–8), 25–29.
19. Wang F., Lu S., Ji M. (2006): Components of released liquid from ultrasonic waste activated sludge disintegration. *Ultrasonics Sonochemistry* Vol. 13, s. 334–338.
20. Weemaes M., Grootaerd H., Simoens F., Verstraete W. (2000): Anaerobic digestion of ozonized biosolids. *Water Research* Vol. 34, s. 2330–2336.
21. Wolny L., Kamizela T. (2003): Technika dezintegracji ultradźwiękowej w technologii ścieków i osadów ściekowych. *Ekologia i Technika* nr 11(1), s. 3–7.
22. Zielewicz E. (2007): Dezintegracja ultradźwiękowa osadu nadmiernego w pozyskiwaniu lotnych kwasów tłuszczowych. *Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej. Inżynieria Środowiska* z. 58, s. 1773.
23. Zhang P., Zhang G., Wang W. (2007): Ultrasonic treatment of biological sludge: Floc disintegration, cell lysis and inactivation. *Bioresource Technology* Vol. 98, s. 207–210.
24. Żeglin-Kurbiel K., Banaś J., Cimochoicz-Rybicka M. (2003): Nowe biotechnologie i kontrola osadów ściekowych do spełnienia wymagań przepisów Unii Europejskiej. *Czasopismo Techniczne* nr 4-Ś, s. 113–126.

Recenzent: dr hab. inż. Jerzy Mazierski