

**AUTOREFERAT**  
**dotyczący osiągnięć w pracy naukowo – badawczej,**  
**organizacyjnej i dydaktycznej**



**1. Imię i nazwisko**

Agnieszka Cydzik-Kwiatkowska

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

2002 magister inżynier ochrony środowiska, specjalność technologia wody, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa, tytuł pracy magisterskiej: „Warunki środowiskowe w sztucznie napowietrzonym Jeziorze Długim w 2000 roku”, opiekun naukowy prof. dr hab. Helena Gawrońska.

2006 doktor nauk rolniczych, dyscyplina kształtowanie środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, tytuł pracy doktorskiej: „Badanie nityfikacji autotroficznej w osadzie czynnym z zastosowaniem techniki PCR”, promotor prof. dr hab. inż. Irena Wojnowska-Baryła.

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych**

2002 - 2006 studia doktoranckie na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

2006 - 2007 asystent w Katedrze Biotechnologii w Ochronie Środowiska Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

od 2007 adiunkt w Katedrze Biotechnologii w Ochronie Środowiska Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

**4. Osiągnięcie wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)**

Osiągnięciem naukowym stanowiącym podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego jest cykl publikacji naukowych zebranych pod wspólnym tytułem: „**Wpływ parametrów oczyszczania ścieków na efektywność procesu oraz charakterystykę morfologiczną i mikrobiologiczną tlenowego osadu granulowanego**”, obejmujący następujące pozycje:

## a) Autor, rok wydania, tytuł publikacji, nazwa wydawnictwa

		Impact Factor	Liczba pkt MNiSW
1.	Cydzik-Kwiatkowska A., 2015, Bacterial structure of aerobic granules is determined by aeration mode and nitrogen load in the reactor cycle, <i>Bioresource Technol.</i> , 181, 312-320.  <i>Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji, analizie statystycznej i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym pracy. Mój udział procentowy szacuję na 100%.</i>	5,039	45
2.	Cydzik-Kwiatkowska A., Wojnowska-Baryła I., 2015, Nitrogen-converting communities in aerobic granules at different hydraulic retention times (HRTs) and operational modes, <i>World J. Microb. Biot.</i> , 31, 1, 75-83.  <i>Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji, analizie statystycznej i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym pracy. Mój udział procentowy szacuję na 95%.</i>	1,353	20
3.	Cydzik-Kwiatkowska A., Rusanowska P., Zielińska M., Bernat K., Wojnowska-Baryła I., 2014, Structure of nitrogen-converting communities induced by hydraulic retention time and COD/N ratio in constantly aerated granular sludge reactors treating digester supernatant, <i>Bioresource Technol.</i> , 154, 162-170.  <i>Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji, analizie statystycznej i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym pracy. Mój udział procentowy szacuję na 65%. Publikacja finansowana z kierowanych przeze mnie projektów badawczych (II.J.4*, II.J.9).</i>	5,039	45
4.	Cydzik-Kwiatkowska A., Bernat K., Zielińska M., Wojnowska-Baryła I., 2014, Cycle length and COD/N ratio determine properties of aerobic granules treating high-nitrogen wastewater, <i>Bioprocess Biosyst. Eng.</i> , 37, 7, 1305-1313.  <i>Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji, analizie statystycznej i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 50%. Publikacja finansowana z kierowanego przeze mnie projektu badawczego (II.J.9).</i>	1,823	25
5.	Cydzik-Kwiatkowska A., Zielińska M., Bernat K., Wojnowska-Baryła I., Truchan T., 2013, Treatment of high-ammonium anaerobic digester supernatant by	3,499	35

\* pozycje oznaczone zgodnie z numeracją z załącznika 2.

aerobic granular sludge and ultrafiltration processes, *Chemosphere*, 90, 8, 2208-2215.

*Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji, analizie statystycznej i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym pracy. Mój udział procentowy szacuję na 55%. Publikacja finansowana z kierowanego przeze mnie projektu badawczego (II.J.9).*

6. Cydzik-Kwiatkowska A., Wojnowska-Baryła I., Szatkowski M., Smoczyński L., 2012, Biochemical conversions and biomass morphology in a long-term operated SBR with aerobic granular sludge, *Desalin. Water Treat.*, 51, 10-12, 2261-2268.

*Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym pracy. Mój udział procentowy szacuję na 90%. Publikacja finansowana z kierowanego przeze mnie projektu badawczego (II.J.9).*

7. Cydzik-Kwiatkowska A., Wojnowska-Baryła I., 2011, Nitrifying granules cultivation in a sequencing batch reactor at a low organics-to-total nitrogen ratio in wastewater, *Folia Microbiol.*, 56, 3, 201-208.

*Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym pracy. Mój udział procentowy szacuję na 95%.*

8. Cydzik-Kwiatkowska A., Wojowska-Baryła I., Selewsk K., 2010, Granulation of sludge under different loads of a glycerol fraction from biodiesel production, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 112, 5, 609-613.

*Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji i metodyki badań, prowadzeniu prac eksperymentalnych, interpretacji i dyskusji wyników oraz przygotowaniu publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym pracy. Mój udział procentowy szacuję na 93%.*

Sumaryczny IF prac stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego wynosi 19,769, natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW wynosi 232.

**b) Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

Efektywność usuwania zanieczyszczeń ze ścieków zależy od struktury biomasy oraz składu gatunkowego mikroorganizmów biorących udział w procesach oczyszczania ścieków. Od lat 90. XX

wieku prowadzone są badania nad opracowaniem podstaw hodowli i wdrożeniem technologii tlenowego osadu granulowanego do oczyszczania ścieków. W roku 2005 International Water Association przyjęła definicję, zgodnie z którą tlenowy osad granulowany to agregaty pochodzenia mikrobiologicznego, które nie koagulują w warunkach zmniejszonego oddziaływania sił ścinających i sedymentują znacząco szybciej niż osad czynny. Biomasa granulowana charakteryzuje się sferyczną, wielowarstwową strukturą gęsto upakowaną mikroorganizmami, czym różni się od kłaczkowatej struktury osadu czynnego. Cechy granul tlenowych, takie jak krótki czas sedymentacji, wytrzymałość na wysokie ładunki zanieczyszczeń doprowadzane do reaktora oraz wysoka efektywność usuwania związków węglowych, azotowych i fosforowych, pozwalają zmniejszyć objętość czynną reaktorów i decydują o konkurencyjności biomasy granulowanej w stosunku do konwencjonalnego osadu czynnego.

Jednym z problemów związanych z praktycznym wykorzystaniem technologii granul tlenowych są warunki hodowli biomasy, w tym dobór źródła związków węglowych w ściekach. W swoich badaniach (I.A.8) jako źródło węgla do wzrostu mikroorganizmów wykorzystałam odpadową glicerynę powstającą podczas produkcji biodiesla. Gliceryna odpadowa jest odpadem uciążliwym, szczególnie jeśli pochodzi z instalacji eksploatowanych w małej skali, w których proces nie jest optymalizowany i nie ma możliwości ustalenia jej składu. Granule hodowano przy obciążeniu biomasy ładunkiem gliceryny odpadowej na poziomie 0,2, 0,6, 1,1 i 1,3 g ChZT/(g s.m.·cykl). Hodowlę prowadzono w reaktorach porcjowych o stopniu wymiany 67%/cykl i 12-godzinnym cyklu pracy. Czas hodowli granul w warunkach eksperymentalnych wyniósł około 25 dni. Granule miały nieregularną powierzchnię porośniętą mikroorganizmami nitkowatymi, co różniło je od granul hodowanych na takich źródłach węgla jak octan czy metanol. Rozwinięta powierzchnia granul hodowanych z wykorzystaniem gliceryny odpadowej pogarszała właściwości sedymentacyjne biomasy powodując jej wymywanie z reaktora i niskie stężenie w układzie (około 1,5 g s.m./dm<sup>3</sup>). Oprócz warunków substratowych w hodowli granul tlenowych istotną rolę odgrywa konstrukcja reaktora okresowego. W prezentowanych badaniach do hodowli osadu granulowanego zaadaptowano reaktor porcjowy o standardowej geometrii (stosunek wysokości do średnicy 2,1), a nie stosowane powszechnie reaktory kolumnowe. Niewielkie siły ścinające działające na biomasę w zastosowanym reaktorze powodowały, że w układzie tworzyły się granule o średnicy nawet 5 mm. Wyznaczone współczynniki przyrostu biomasy zmieniały się w miarę zwiększania obciążenia biomasy ładunkiem zanieczyszczeń. Obserwowano hamowanie wzrostu mikroorganizmów przy obciążeniu 1,3 g ChZT/(g s.m.·cykl), wynikające z toksycznego oddziaływania składników frakcji glicerynowej takich jak metanol i mydła.

Problemem w technologii oczyszczania ścieków jest efektywne oczyszczanie strumieni ścieków charakteryzujących się wysokimi stężeniami związków azotu oraz niekorzystnym stosunkiem

związków organicznych do azotu (ChZT/N), takich jak wody nadosadowe powstające w procesach przeróbki osadów ściekowych. Wprowadzenie do ścieków strumienia wód nadosadowych powoduje zwiększenie nawet o 30% ładunku azotu doprowadzanego do części biologicznej oczyszczalni, zmniejszając efektywności nityfikacji i denityfikacji, a w rezultacie sprawność usuwania azotu. Jednym z rozwiązań tego problemu jest usuwanie azotu ze ścieków o niskim stosunku ChZT/N w strumieniu bocznym ciągu technologicznego. Celem moich badań było opracowanie wytycznych hodowli granul tlenowych, pozwalających na eksploatację reaktora w warunkach wysokich obciążeń biomasy ładunkiem azotu i przy niekorzystnym stosunku związków węglowych do azotowych w ściekach. W badaniach określałam wpływ przyjętych parametrów operacyjnych na efektywność przemian związków węgla i azotu, morfologię granul oraz zbiorowiska mikroorganizmów zasiedlających granule tlenowe.

W eksperymencie zaprezentowanym w kolejnej pracy (I.A.7) badania technologiczne prowadzono w reaktorze porcjowym z granulami tlenowymi (GSBR) o standardowej geometrii przy 12-godzinnej długości cyklu i stopniu wymiany objętościowej 75%/cykl. Jako substrat do hodowli nityfikującego tlenowego osadu granulowanego zastosowano ścieki syntetyczne o składzie zbliżonym do komunalnych i stężeniu łatwo dostępnych związków organicznych na poziomie  $300 \text{ mg/dm}^3$ . Stężenie azotu w ściekach początkowo wyniosło około  $160 \text{ mg/dm}^3$ , co skutkowało obciążeniem biomasy ładunkiem związków azotowych na poziomie  $0,15 \text{ g N-NH}_4^+ / (\text{g s.m.} \cdot \text{d})$ . Po uzyskaniu pełnego utlenienia azotu amonowego, zwiększono stężenie azotu amonowego w ściekach do około  $300 \text{ mg/dm}^3$ , co zwiększyło obciążenie biomasy do  $0,3 \text{ g N-NH}_4^+ / (\text{g s.m.} \cdot \text{d})$ . Stosunek ChZT/N w ściekach wyniósł 1. W tych warunkach usuwane było 99% azotu amonowego, a 83% utlenionych form azotu w odpływie stanowił azot azotanowy(III). Szybkość usuwania azotu amonowego przez granule tlenowe dochodziła do  $24,6 \text{ mg}/(\text{g s.m.o.} \cdot \text{h})$ . Substraty wprowadzane ze ściekami były wyczerpywane już w 4 godzinie cyklu, co wskazywało na możliwość skrócenia cyklu lub zwiększenia obciążenia granul tlenowych ładunkiem azotu. Stężenie biomasy w reaktorze wyniosło  $1,6 \pm 0,12 \text{ g s.m.}/\text{dm}^3$ , natomiast średnice granul wyniosły średnio  $1,9 \pm 1,7 \text{ mm}$ . Warunki niedotlenione we wnętrzu granul powodowały, że efektywność denityfikacji była na poziomie 23%, pomimo ciągłego napowietrzania w cyklu pracy reaktora. W badaniach uzyskano granulację przy niższym obciążeniu biomasy ładunkiem związków organicznych niż wartości raportowane w literaturze. Przyrost biomasy wyniósł  $0,037 \text{ g s.m.o.}/\text{g ChZT}$ .

Efektywne i stabilne utlenianie azotu amonowego przez tlenowy osad granulowany wymaga takiego doboru parametrów technologicznych procesu, aby warunki w reaktorze sprzyjały rozwojowi liczego i wielogatunkowego zbiorowiska bakterii utleniających amoniak (AOB). Te mikroorganizmy charakteryzuje długi czas generacji i wrażliwość na czynniki środowiskowe. Doświadczenia własne

(I.A.7) wskazują, że o składzie gatunkowym AOB w tlenowych granulach decydowało obciążenie biomasy ładunkiem związków azotowych. Wyższe obciążenie powodowało, że w granulach, oprócz bakterii z rodzaju *Nitrospira*, identyfikowano także bakterie z rodzaju *Nitrosomonas*. Udział procentowy AOB w granulach tlenowych zwiększał się w miarę adaptacji biomasy do warunków eksperymentalnych od kilku procent przy obciążeniu  $0,15 \text{ g N-NH}_4^+ / (\text{g s.m.}\cdot\text{d})$  do ponad 30% przy obciążeniu  $0,3 \text{ g N-NH}_4^+ / (\text{g s.m.}\cdot\text{d})$ .

W kolejnych doświadczeniach zmieniono substrat do hodowli granul nityfikacyjnych ze ścieków syntetycznych o niskim stosunku ChZT/N na wody nadosadowe, wydzielone podczas stabilizacji beztlenowej osadu. W badaniach zaprezentowanych w trzeciej z prac stanowiących osiągnięcie naukowe (I.A.6), reaktor porcjowy eksploatowano w temperaturze  $26^\circ\text{C}$  przy stopniu wymiany objętościowej 63%/cykl i 8-godzinnym cyklu pracy. Badania prowadzono przez około rok (995 cykli). W fazie reakcji doprowadzono do reaktora powietrze. Do 600 cyklu zwiększano stopniowo udział wód nadosadowych w ściekach dopływających do reaktora, by od 601. cyklu dozować nierozcieńczone wody nadosadowe o stężeniu azotu  $425 \text{ mg N}_{\text{og}}/\text{dm}^3$ . Przez pierwsze 400 cykli stężenie ChZT w dopływie do reaktora utrzymywano na poziomie  $600 \text{ mg}/\text{dm}^3$ , w cyklach 401-800 zwiększono je do  $1700 \text{ mg}/\text{dm}^3$  przez dodanie zewnętrznego źródła węgla w postaci octanu sodu. Od 801 cyklu obniżono stężenie ChZT w ściekach doprowadzanych ponownie do  $600 \text{ mg}/\text{dm}^3$ , co skutkowało wzrostem efektywności utleniania azotu amonowego przez tlenowy osad granulowany. W ostatnich 100 cyklach badawczych obciążenie biomasy na początku fazy napowietrzania wyniosło  $0,36 \text{ g ChZT}/(\text{g s.m.o.}\cdot\text{d})$  oraz  $0,22 \text{ g N}_{\text{og}}/(\text{g s.m.o.}\cdot\text{d})$ . Uzyskano  $77 \pm 12\%$  efektywność usunięcia ChZT oraz  $94,5\%$  sprawność usunięcia azotu amonowego z szybkością  $16 \text{ mg}/(\text{g s.m.o.}\cdot\text{h})$ . Stężenie wolnego amoniaku w reaktorze porcjowym powodowało inhibicję bakterii II fazy nityfikacji, co skutkowało kumulacją azotu azotanowego(III) w reaktorze. Z bilansu związków azotu i węgla w układzie z granulami tlenowymi w warunkach niskiego ChZT/N i wysokiego obciążenia biomasy ładunkiem związków azotu wynika, że 68% azotu doprowadzonego do reaktora zostało utlenione do azotu azotanowego(III), 1% do azotu azotanowego(V), 4% było wykorzystane na syntezę biomasy, natomiast około 26% było usuwane w wyniku symultanicznej nityfikacji i denityfikacji w strukturze granul. Bilans związków węgla wykazał, że 21% wprowadzanych ze ściekami organicznych związków węglowych było wykorzystywane na oddychanie endogenne, około 26% w procesie denityfikacji, 31% magazynowane jako substancje zapasowe w postaci PHB (polibetahydroksymaślan), natomiast 21% było wbudowane w biomasę heterotroficzną oraz wykorzystane na syntezę polimerów zewnątrzkomórkowych (EPS). W warunkach dozowania wód nadosadowych uzyskano granule gęsto upakowane mikroorganizmami o wyraźnie wyodrębnionym kształcie i indeksie opadalności na poziomie  $35 \pm 10 \text{ cm}^3/\text{g s.m.}$  Średnice granul zmieniały się w przedziale od 0,21 do 6,6 mm ze średnią

wartością  $2,13 \pm 1,29$  mm; granule o średnicy do 1 mm stanowiły 21% biomasy, od 1 do 2 mm - 30% biomasy, od 2 do 4 mm - 30% biomasy, a większe niż 4 mm - 19% biomasy. Zwiększanie średnicy granul powodowało spadek ich gęstości.

Długość cyklu pracy reaktora porcjowego jest jednym z parametrów eksploatacyjnych decydujących o efektywności granulacji tlenowej i aktywności biomasy w reaktorze porcjowym. W pracy I.A.5 zaprezentowano wyniki oczyszczania wód nadosadowych przy długościach cyklu pracy GSBR 6, 8, 12 h, odpowiadających hydraulicznym czasom zatrzymania 9,6 h, 12,8 h oraz 19,2 h. Wody nadosadowe doprowadzane do reaktorów charakteryzowały się stężeniem azotu amonowego na poziomie  $570 \text{ mg N}_{\text{og}}/\text{dm}^3$  oraz ChZT na poziomie  $800 \text{ mg}/\text{dm}^3$ . Najwyższą sprawność nityfikacji i specyficzną szybkość utleniania azotu amonowego ( $15 \text{ mg N}/(\text{g s.m.o}\cdot\text{h})$ ) uzyskano w cyklu 8-godzinnym. W cyklu 6-godzinnym utlenianie azotu amonowego kończyło się w ostatniej godzinie cyklu, co stwarzało ryzyko pozostawiania azotu amonowego w odpływie. W cyklu 12-godzinnym utlenianie amoniaku następowało już w połowie cyklu, co czyniło tę długość cyklu nieekonomiczną ze względu na koszty napowietrzania. W reaktorach z tlenowym osadem granulowanym dominowała częściowa nityfikacja do azotu azotanowego(III), co w połączeniu z heterotroficzną denityfikacją zmniejsza o 25% zapotrzebowanie na tlen w układzie technologicznym i o 40% ilość węgla organicznego do denityfikacji. W układach z częściową nityfikacją i heterotroficzną denityfikacją uzyskuje się także niższą produkcję biomasy oraz niższą emisję  $\text{CO}_2$  do atmosfery. Odpływ z GSBR zawierał azot azotanowy(III), trudnorozkładalne związki organiczne, biomasę i był barwny. W celu doczyszczenia ścieków zastosowano post-denityfikację oraz filtrację membranową. Do reaktora post-denityfikacyjnego wprowadzano octan sodu jako zewnętrzne źródło węgla oraz oczyszczone ścieki zawierające biomasę wymytą z GSBR. Spośród testowanych wariantów dozowania zewnętrznego źródła węgla najlepsze rezultaty osiągnięto, wprowadzając do reaktora na początku fazy reakcji połowę teoretycznej dawki węgla organicznego na redukcję azotu azotanowego(III) i powtarzając zabieg po 3 i 7 godzinach. W tym wariacie uzyskano 99% efektywność usunięcia związków azotu przez granule tlenowe z szybkością  $12,3 \text{ mg N-NO}_2^-/(\text{g s.m.o}\cdot\text{h})$ . Odpływ z reaktora post-denityfikacyjnego o stężeniu  $342 \text{ mg ChZT}/\text{dm}^3$  i stężeniu zawiesin  $338 \text{ mg s.m.}/\text{dm}^3$  był doczyszczany w module do ultrafiltracji (UF). Zastosowanie GSBR eksploatowanego w cyklu 8-godzinnym, optymalnego wariantu post-denityfikacji oraz UF umożliwiło 99% redukcję azotu, 71% usunięcie ChZT oraz 97% redukcję barwy wód nadosadowych; uzyskany odpływ nie stwarzał zagrożenia sanitarnego.

Stosując techniki PCR-DGGE i real-time PCR wykazałam zależność pomiędzy obciążeniem biomasy ładunkiem związków azotu a obecnością tlenowych i beztlenowych bakterii utleniających amoniak w osadzie granulowanym (I.A.3). Obniżanie stosunku ChZT/N w ściekach doprowadzanych



do reaktora z tlenowym osadem granulowanym z 4,5 do 2,3 skutkowało wzrostem liczebności bakterii prowadzących proces Anammox, wskazując pośrednio na wzrost roli beztlenowego usuwania amoniaku. Jednocześnie wydłużanie cyklu pracy reaktora sprzyjało utlenianiu azotu amonowego przez AOB. Wykazałam statystycznie istotny wpływ stosunku ChZT/N w ściekach na zbiorowisko AOB. Bakterie *Nitrosomonas* sp. i *Nitrosococcus mobilis* były obecne w biomacie przy niższym stosunku ChZT/N oraz przy krótszym cyklu pracy reaktora, skutkującym wyższym obciążeniem biomasy ładunkiem związków azotu. Współistnienie w granulach bakterii AOB, bakterii prowadzących proces Anammox i bakterii denitryfikacyjnych powodowało, że azot był usuwany ze ścieków pomimo warunków tlenowych w reaktorze. Szybkości usuwania azotu wyniosły 172, 144 i 50 mg N/(dm<sup>3</sup>·d) przy długościach cyklu 6 h, 8 h i 12 h i stosunku ChZT/N w ściekach dopływających 4,5 oraz odpowiednio 380, 222 i 150 mg N/(dm<sup>3</sup>·d) przy ChZT/N równym 2,3.

*Thiobacillus denitrificans*, *Pseudomonas denitrificans* i *Azoarcus* sp. występowały w granulach tlenowych niezależnie od sposobu eksploatacji reaktora, co wskazywało na ich tolerancję na warunki środowiskowe. W biomacie identyfikowano bakterie z rodzajów *Pseudomonas*, *Shinella* i *Flavobacterium*, których zdolność do syntezy polimerów zewnątrzkomórkowych mogła wspomagać formowanie struktury przestrzennej granul tlenowych.

Stosunek ChZT/N w ściekach dopływających do reaktorów wpływał na skład gatunkowy bakterii denitryfikacyjnych. Liczebność bakterii denitryfikacyjnych w tlenowym osadzie granulowanym była powiązana z wielkością granul. Najwyższą liczebność bakterii posiadających gen *nosZ* notowano w reaktorze eksploatowanym w cyklu 6-godzinnym, przy stosunku ChZT/N w dopływie równym 2,3. Najniższą liczebność bakterii posiadających geny denitryfikacyjne *nirK*, *nirS* i *nosZ* odnotowano w granulach z reaktora pracującego w 8-godzinnym cyklu, do którego doprowadzano ścieki o stosunku ChZT/N równym 2,3. W tych warunkach eksploatacyjnych granule tlenowe miały najniższe średnice na poziomie 0,9 mm. Mała średnica sprzyjała dyfuzji tlenu w głąb struktury granul i pogarszała warunki rozwoju mikroorganizmów denitryfikacyjnych. Zróżnicowanie bakterii posiadających gen *nirK* w granulach było o około 29-58% wyższe niż bakterii posiadających gen *nirS*, co stanowi jeden z niewielu udokumentowanych przypadków, ponieważ gen *nirS* jest bardziej rozpowszechniony wśród bakterii z różnych środowisk. Prawdopodobną przyczyną było wysokie stężenie tlenu w GSBR. Reduktaza azotynowa kodowana przez gen *nirS* jest bardziej wrażliwa na tlen niż reduktaza azotynowa kodowana przez gen *nirK*. Przy niższym ChZT/N w ściekach dopływających znacząco zwiększyła się różnorodność bakterii redukujących N<sub>2</sub>O na skutek pojawienia się tlenowych denitryfikantów.

Przeprowadzone badania wykazały, że średnice granul, jak też upakowanie mikroorganizmów oraz zawartość polimerów zewnątrzkomórkowych w strukturze granul decydują o łatwości

oddzielania biomasy od ścieków oczyszczonych oraz wpływają na intensywność przemian w reaktorze (I.A.4). Wykazano, że przy 6-godzinnym cyklu GSBR i stosunku ChZT/N w ściekach doprowadzanych do reaktora równym 2,3 w biomacie dominowały granule o średnicach 0,5-1,0 mm, co sprzyjało efektywnej symultanicznej nityfikacji i denityfikacji i skutkowało najwyższym dobowym usunięciem azotu. Efektywność denityfikacji ujemnie korelowała z zawartością EPS w strukturze granul, co wskazywało, że kumulacja polimerów zewnątrzkomórkowych w biomacie zmniejszała dostępność związków węglowych do redukcji utlenionych form azotu. Biomasa miała bardzo dobre właściwości sedymentacyjne i wysoką stabilność, wyrażaną wartością wymiaru fraktalnego. Obniżenie stosunku ChZT/N w ściekach doprowadzanych z 4,5 do 2,3 skutkowało obniżeniem średnicy granul o około 26% przy 6-godzinnym cyklu pracy i aż o 52% przy cyklu 8-godzinnym. Obniżenie średnic granul uzyskano także poprzez wydłużanie cyklu GSBR. Na wartość współczynnika przyrostu biomasy ( $Y_{obs}$ ) wpływał udział EPS-ów w strukturze granul. Ten fakt należy uwzględnić wykorzystując  $Y_{obs}$  do porównania przyrostu mikroorganizmów w granulach i osadzie czynnym.

Kontynuując badania nad wpływem parametrów operacyjnych na efektywność przemian i zbiorowiska mikroorganizmów w tlenowym osadzie granulowanym, określałam możliwości intensyfikacji przemian związków azotu poprzez wprowadzenie faz niedotlenionych w cyklu pracy reaktora. W pracy I.A.2 zaprezentowano wyniki badań wpływu wprowadzenia 45-minutowej fazy niedotlenionej na początku cyklu pracy GSBR na aktywność mikroorganizmów i efektywność usuwania zanieczyszczeń przez granule tlenowe. Reaktory eksploatowano przy hydraulicznym czasie zatrzymania 10, 13 i 19 h. Liczebność i aktywność wybranych grup bakterii w biomacie określano stosując relatywny real-time PCR, wykorzystując odpowiednio analizę DNA oraz RNA. W GSBR uzyskiwano pełne utlenienie azotu amonowego, natomiast wydłużanie HRT obniżyło efektywność denityfikacji. Przy danym HRT, efektywność denityfikacji była o 12%, 8% i 2% wyższa w reaktorach z fazą niedotlenioną niż w reaktorach z ciągłym napowietrzaniem w fazie reakcji. Wprowadzenie fazy niedotlenionej skutkowało także wyższą objętościową szybkością usuwania azotu amonowego. Wydłużenie HRT oraz wprowadzenie fazy niedotlenionej sprzyjało pełnej nityfikacji do azotu azotanowego(V). Ze wzrostem HRT następował wzrost liczebności AOB w granulach tlenowych i spadek liczebności bakterii prowadzących proces Anammox. Wprowadzenie fazy niedotlenionej w cyklu pracy GSBR powodowało około 1,5-krotny wzrost liczebności bakterii prowadzących Anammox w granulach tlenowych. Beztlenowe i tlenowe bakterie utleniające azot amonowy oraz bakterie redukujące  $N_2O$  były równocześnie aktywne w granulach o średnicy około 1 mm pomimo warunków tlenowych w reaktorze. Wprowadzenie fazy niedotlenionej stymulowało również aktywność badanych grup bakterii. Aktywność bakterii denityfikacyjnych była wielokrotnie wyższa w reaktorach z fazą niedotlenioną w cyklu niż w reaktorach o ciągłym napowietrzaniu, choć

mikroorganizmy były aktywne przez krótszy czas. Niezależnie od warunków tlenowych w reaktorze, najwyższą aktywność beztlenowych i tlenowych bakterii utleniających azot amonowy oraz bakterii redukujących  $N_2O$  notowano przy 13-godzinnym HRT.

Prowadziłam badania nad wpływem obciążenia biomasy ładunkiem związków azotu oraz obecności faz niedotlenionych w cyklu pracy reaktora porcjowego z granulami tlenowymi na skład gatunkowy całkowitego zbiorowiska bakterii oraz przemiany związków azotu w GSBR (I.A.1). Badania prowadzono w 4 reaktorach kolumnowych o pojemności  $4,5 \text{ dm}^3$ , stosunku wysokości do średnicy równym 10, zasilanych wodami nadosadowymi o stężeniu  $570 \text{ mg } N_{og}/\text{dm}^3$  i eksploatowanych w 8-godzinnym cyklu pracy. Pierwszy z reaktorów był napowietrzany w fazie reakcji i pracował przy obciążeniu ładunkiem związków azotowych  $0,6 \text{ kg } N_{og}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ . Pozostałe trzy reaktory eksploatowano przy  $1,1 \text{ kg } N_{og}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$  i różniły się liczbą faz niedotlenionych w cyklu pracy (od 0 do 2). Najwyższą efektywność oczyszczania wód nadosadowych obserwowano w reaktorze eksploatowanym przy  $1,1 \text{ kg } N_{og}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$  z dwiema fazami niedotlenionymi w cyklu. Wprowadzenie faz niedotlenionych stymulowało nitrifikację do azotu azotanowego(V) i usuwanie związków węglowych. Przy obciążeniu  $1,1 \text{ kg } N_{og}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ , obecność faz niedotlenionych w cyklu pracy skutkowała istotnie wyższą sprawnością denitryfikacji w porównaniu do reaktora z ciągłym napowietrzaniem w cyklu. Wyższe specyficzne szybkości usuwania azotu amonowego notowano w reaktorach eksploatowanych przy wyższym obciążeniu biomasy ładunkiem związków azotowych (od  $12,8$  do  $15,4 \text{ mg } N\text{-NH}_4^+/(g \text{ s.m.o.}\cdot\text{h})$ ) w porównaniu do reaktora eksploatowanego przy  $0,6 \text{ kg } N_{og}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$  ( $8,4 \text{ mg } N\text{-NH}_4^+/(g \text{ s.m.o.}\cdot\text{h})$ ).

Zbiorowiska mikroorganizmów w tlenowych granulach analizowano nowoczesną metodą wysokosprawnego sekwencjonowania - pirosekwencjonowaniem. W osadzie granulowanym, niezależnie od warunków eksploatacyjnych, dominowały *Proteobacteria* i *Actinobacteria*, stanowiąc od 90,14 do 98,59% zidentyfikowanych sekwencji. Najwyższy udział *Actinobacteria* uzyskano w granulach z reaktora z dwiema fazami niedotlenionymi w cyklu, co wynikało zarówno z wysokiego stężenia azotu azotanowego(V), substratu do denitryfikacji dla tych mikroorganizmów, jak też ze zmian stężenia tlenu w cyklu, co faworyzuje obecność *Actinobacteria* w biomacie. W granulach powszechnie występowały bakterie *Rhodocyclales*, *Xanthomonadaceae*, *Sphingomonadales* oraz *Rhizobiales*, które są zdolne do produkcji polimerów zewnątrzkomórkowych sprzyjających formowaniu granul tlenowych.

W biomacie z GSBR z napowietrzaniem w fazie reakcji identyfikowano autotroficzne bakterie nitrifikacyjne z rodzajów *Nitrosomonas* i *Nitrospira*. Wprowadzenie faz niedotlenionych w cyklu pracy reaktora spowodowało pojawienie się w granulach dużej liczby bakterii zdolnych do heterotroficznej nitrifikacji, takich jak *Pseudomonas* sp. i *Paracoccus* sp. Najniższą różnorodność

biomasy notowano w reaktorze eksploatowanym przy niższym obciążeniu ładunkiem związków azotu. W reaktorach pracujących przy obciążeniu  $1,1 \text{ kg N}_{\text{org}}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ , wprowadzanie kolejnych faz niedotlenionych powodowało obniżenie zróżnicowania bakterii w granulach tlenowych. W reaktorze z jedną fazą niedotlenioną w cyklu pracy w biomacie dominował *Paracoccus aminophilus* (62,73% zidentyfikowanych sekwencji), natomiast w reaktorze z dwiema fazami w cyklu - *Corynebacterium* sp. (65,10% zidentyfikowanych sekwencji).

Analiza kanoniczna wykazała, że bakterie z rodzaju *Bradyrhizobium* występowały jedynie w biomacie z reaktorów z napowietrzaniem w fazie reakcji. Liczebność *Devosia terrae*, *Pseudomonas* sp. i *Corynebacterium* sp. w granulach tlenowych wzrastała w miarę zwiększania liczby faz niedotlenionych w cyklu GSBR. *Lysobacter* sp. i *Mesorhizobium* sp. występowały niezależnie od sposobu eksploatacji reaktora, co wskazuje na potencjał adaptacyjny do warunków operacyjnych reaktora z tlenowymi granulami. W granulach tlenowych zidentyfikowano również mikroorganizmy występujące w biomacie tylko przy określonym sposobie eksploatacji reaktora.

Moim osiągnięciem naukowym jest opracowanie wytycznych hodowli granul tlenowych i eksploatacji systemów z osadem granulowanym, zarówno w warunkach tlenowych, jak i tlenowo-niedotlenionych. Wyzaczyłam kluczowe parametry operacyjne wpływające na efektywność i kinetykę usuwania związków azotu i węgla przez granulę tlenową. Wykazałam wpływ substratu oraz parametrów operacyjnych procesu na aktywność mikroorganizmów i morfologię granul tlenowych. Zaproponowałam rozwiązanie integrujące technologię granulacji tlenowej z post-denitryfikacją ścieków po stopniu biologicznym oraz filtracją membranową, zapewniające efektywne oczyszczanie ścieków o wysokiej zawartości azotu i niskim stosunku ChZT/N.

Rozwinęłam i upowszechniłam metodyki badań molekularnych do analizy biocenozy technicznych. Wykorzystując rezultaty oznaczeń technologicznych i molekularnych, wyznaczyłam parametry operacyjne reaktorów porcjowych, determinujące skład gatunkowy zbiorowisk mikroorganizmów w granulach tlenowych. Wskazałam grupy mikroorganizmów o wysokiej tolerancji na zmiany parametrów eksploatacyjnych reaktorów z biomasą granulowaną, w tym mikroorganizmy produkujące polimery zewnątrzkomórkowe, sprzyjające formowaniu granul. Wykazałam możliwość zwiększenia liczebności wolno rosnących mikroorganizmów w osadzie granulowanym przez sterowanie parametrami operacyjnymi procesu. Tego typu działania są ograniczone w układach z osadem czynnym, w których dominuje wzrost zdyspergowany i istnieje ryzyko wymywania wolno rosnących bakterii z reaktora. Rezultaty badań molekularnych poszerzają wiedzę o ekologii i wzajemnych zależnościach pomiędzy mikroorganizmami w granulach tlenowych.

Wyniki prac prezentowane w dziele naukowym stanowią podstawę do modelowania i projektowania układów technologicznych z tlenowym osadem granulowanym, zapewniających

intensyfikację procesów oczyszczania ścieków, w szczególności o wysokiej zawartości azotu amonowego i niskim stężeniu węgla organicznego. Doświadczenia technologiczne były podstawą zgłoszenia patentowego (III.Q.6). Wykazałam, że technologię granul tlenowych można zaadaptować do oczyszczania ścieków w istniejących instalacjach z reaktorami porcjowymi o typowych wymiarach. Kierowałam zakończonym sukcesem rozruchem oczyszczalni ścieków w technologii granul tlenowych (II.B.2).

#### **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych**

W 1997 r. rozpoczęłam studia na Wydziale Ochrony Wód i Rybactwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (ówczesnej Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie). Podczas studiów aktywnie uczestniczyłam w pracach Akademickiego Klubu Turystycznego, poznając przyrodę i problemy ochrony środowiska naturalnego. Angażowałam się w działalność organizacyjną na rzecz studentów, pełniąc między innymi rolę przewodniczącej akademika. Na ostatnim roku studiów uczestniczyłam w programie wymiany studentów MOST (III.L.12), co pozwoliło mi studiować na Uniwersytecie Gdańskim oraz na Politechnice Gdańskiej. Brałam udział w zajęciach w ramach Uniwersytetu Bałtyckiego (III.L.11), stowarzyszenia uniwersytetów z państw nadbałtyckich zajmującego się problemami ochrony morza Bałtyckiego. Studia ukończyłam jako najlepsza studentka na Wydziale, uzyskując jednocześnie nagrodę JM Rektora UWM w Olsztynie (III.D.1). Doświadczenie zdobyte podczas studiów zadecydowało o podjęciu przeze mnie w 2000 roku studiów doktoranckich na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa UWM w Olsztynie. Opiekunem naukowym była prof. dr hab. inż. Irena Wojnowska-Baryła.

Od początku pracy naukowej moje zainteresowania badawcze były związane z dyscypliną biotechnologia i koncentrowały się na zagadnieniach biotechnologicznego unieszkodliwiania ścieków i odpadów. Do najważniejszych obszarów działalności naukowo-badawczej zaliczam:

- wykorzystanie technik biologii molekularnej do określenia wpływu parametrów operacyjnych na kształtowanie zbiorowisk mikroorganizmów w systemach oczyszczania ścieków i przeróbki odpadów,
- wykorzystanie złożonych zbiorowisk mikroorganizmów do doskonalenia technologii biologicznego oczyszczania ścieków komunalnych i wód nadosadowych, w tym usuwania trudno rozkładalnych związków organicznych ze ścieków.

**Wykorzystanie technik biologii molekularnej do określenia wpływu parametrów operacyjnych na kształtowanie zbiorowisk mikroorganizmów w systemach oczyszczania ścieków i przeróbki odpadów**

Biologiczne systemy oczyszczania ścieków wykorzystują aktywność mikroorganizmów tworzących struktury przestrzenne jak kłaczkosady czynne, błona biologiczna czy granule. Stabilne i efektywne usuwanie zanieczyszczeń ze ścieków jest uwarunkowane liczebnością i różnorodnością mikroorganizmów przeprowadzających takie procesy jednostkowe jak nityfikacja, denityfikacja czy usuwanie fosforu. Określenie wpływu parametrów operacyjnych na skład zbiorowiska mikroorganizmów oczyszczających ścieki umożliwia kontrolowanie wzrostu w biocenozie technicznej wyspecjalizowanych grup mikroorganizmów, co przekłada się na wyższą wydajność procesu.

W 2002 roku zapoczątkowałam nowatorskie w skali kraju badania nad zastosowaniem narzędzi biologii molekularnej do badania złożonych zbiorowisk mikroorganizmów w systemach oczyszczania ścieków. W badaniach koncentrowałam się na mikrobiologicznych podstawach przemian związków azotu. W pracy doktorskiej opracowałam metodykę analiz bakterii nityfikacyjnych I fazy z wykorzystaniem techniki PCR-RFLP (łańcuchowa reakcja polimerazy połączona z trawieniem uzyskanych produktów PCR enzymami restrykcyjnymi). Określiłam wpływ składu ścieków na kształtowanie się zbiorowiska AOB w osadzie czynnym. Wykazałam, że zwiększenie ładunku azotu amonowego w ściekach zawierających jedynie nieorganiczne źródła węgla powodowało szybszą stabilizację składu gatunkowego i wyższą liczebność AOB, jednak ich zróżnicowanie w osadzie czynnym malało. Czynnikiem obniżającym zróżnicowanie AOB w osadzie czynnym było także wprowadzenie do ścieków węgla organicznego. Uzyskane wyniki były podstawą pracy doktorskiej, publikacji II.E.15, pracy przeglądowej II.E.19 oraz rozdziałów w monografiach (II.E.5, II.E.6). Badania były finansowane ze środków UWM w Olsztynie w ramach projektu wydziałowego i grantu uniwersyteckiego (II.F.11) oraz finansowane z projektu KBN (II.J.13). Uzyskałam również stypendium unijne dla doktorantów (III.Q.8).

W kolejnych latach opracowywałam metodyki badawcze, dostosowując je do oceny zbiorowisk mikroorganizmów w biocenozach technicznych. Stosowałam techniki PCR-DGGE (łańcuchowa reakcja polimerazy z elektroforezą w gradiencie czynnika denaturującego) oraz RISA (analiza rybosomalnych sekwencji międzygenowych), wykazując ich przydatność do analizy zmian składu gatunkowego w czasie, zarówno w całkowitym zbiorowisku bakterii, jak i w zbiorowisku AOB (II.E.18). Identyfikowałam bakterie produkujące średnio-łańcuchowe polibetahydroksykwasy (*mcl*-PHA) w osadzie czynnym oraz charakteryzowałam operon PHA. Analiza sekwencji szczepów bakteryjnych na podstawie genu 16S rDNA wykazała, że w osadzie czynnym zdolność syntezy

polihydroksykwasy posiadał *Comamonas testosteroni* oraz bakterie z rodzaju *Pseudomonas*. Wyniki opublikowano w II.A.18. Badałam także aktywność mikroorganizmów wykorzystując analizę RNA. Ten typ podejścia w badaniach molekularnych jest szczególnie wymagający, ponieważ RNA jest cząsteczką labilną i łatwo ulega degradacji. Pula informacyjnego RNA (mRNA) w komórce stanowi zaledwie około 5% całkowitej ilości RNA, dlatego analiza poziomów ekspresji wybranych genów wymaga doświadczenia i umiejętności. Badania dotyczyły aktywności AOB oraz ogólnej aktywności bakterii w osadzie czynnym. Obserwowano, że pierwsze transkrypty *amoA* pojawiły się po 2 godzinach cyklu pracy reaktora porcjowego (SBR) i były obecne do końca cyklu, z maksimum w 12. godzinie napowietrzania. Zmiany aktywności AOB korelowały ze zmianami stężenia azotu azotanowego(III) w reaktorze. Całkowita aktywność bakterii rosła w cyklu pracy reaktora. Wyniki opublikowałam w pracy II.E.17. Badałam również aktywność mikroorganizmów w tlenowym osadzie granulowanym, a wyniki opisałam w publikacji I.A.2 oraz prezentowałam na konferencjach międzynarodowych (II.L.7, III.B.3). Opracowałam metodykę przechowywania utrwalonych próbek biomasy, zapewniającą najlepsze efekty izolacji zarówno pod względem ilości, jak i jakości uzyskiwanego RNA (II.E.10).

Z zespołem badałam mikroorganizmy w biomacie unieruchomionej stosując techniki RISA, FISH (fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*) i real-time PCR. Uzyskałam dodatnią korelację między różnorodnością bakterii a efektywnością usuwania związków organicznych ze ścieków komunalnych w warunkach zmiennego hydraulicznego czasu zatrzymania (HRT) i stopnia cyrkulacji wewnętrznej. Wykazano, że przy braku organicznych związków węgla w ściekach dopływających do reaktora z unieruchomionym osadem czynnym, skracanie HRT skutkowało obniżeniem ogólnej liczby bakterii i zwiększaniem liczby AOB. Dodatek organicznych związków węglowych do ścieków ograniczał występowanie nityfikantów I fazy. Skrócenie HRT poniżej 1,5 h powodowało obniżenie liczebności AOB i efektywności nityfikacji. Wyniki opublikowano w *Archives of Environmental Protection, Polish Journal of Environmental Studies* (II.A.15, II.A.6), a także prezentowano na międzynarodowych konferencjach (III.B.17, III.B.13), z których abstrakty opublikowano w *New Biotechnology* i *Journal of Biotechnology*.

Stosując techniki biologii molekularnej określiłam wpływ stosunku ChZT/N (0,7 lub 6,8) w ściekach komunalnych oraz stężenia tlenu (0,5 lub 1,5 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>) na zbiorowisko bakterii, w tym AOB, w osadzie czynnym w warunkach stałego napowietrzania reaktora porcjowego. Zróznicowanie bakterii w osadzie czynnym było warunkowane stężeniem tlenu w reaktorze. Obniżanie stężenia tlenu do 0,5 mg/dm<sup>3</sup> skutkowało ograniczeniem bogactwa gatunkowego biomasy. W przypadku AOB bardziej liczne i zróznicowane zbiorowiska obserwowano, gdy do reaktora wprowadzano ścieki o stosunku ChZT/N wynoszącym 0,7. W badaniach wykazano, że przy stężeniu tlenu w reaktorze na

poziomie 0,5 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> osad czynny charakteryzował się wysoką liczebnością i różnorodnością AOB i efektywną nityfikacją. Wyniki opublikowano w *Journal of Environmental Sciences* (II.A.11).

Uczestniczyłam w badaniach nad wpływem sposobu eksploatacji reaktora w warunkach ograniczonego stężenia tlenu w fazie napowietrzania na skład zbiorowiska AOB w osadzie czynnym i efektywność usuwania azotu z wód nadosadowych. Reaktory eksploatowano w cyklu 24-godzinny, stosując naprzemienne 7-godzinne fazy napowietrzania i 1-godzinne fazy mieszania lub naprzemienne 4-godzinne fazy napowietrzania i 5,5-godzinne fazy mieszania. W danym układzie faz napowietrzania i mieszania zmieniano stopnie wymiany objętościowej. Zastosowanie 7-godzinnego cyklu napowietrzania sprzyjało wysokiej różnorodności AOB w osadzie czynnym. Dla testowanych długości faz napowietrzania/mieszania wzrost stopnia wymiany objętościowej powodował spadek zróżnicowania i liczebności AOB w osadzie czynnym. W biomacie zidentyfikowano bakterie *Nitrosomonas* sp. i *Nitrosospira* sp.; bakterie z rodzaju *Nitrosospira* były wrażliwe na zmianę warunków operacyjnych SBR. Wyniki opublikowano w *Journal of Microbiology and Biotechnology* (II.A.7).

Doświadczenie w stosowaniu technik biologii molekularnej w badaniach biocenoz hodowanych w warunkach laboratoryjnych pozwoliły na aplikację narzędzi biologii molekularnej do badań zbiorowisk mikroorganizmów w warunkach technicznych. Koordynowałam dwa eksperymenty badawcze, dotyczące analizy wpływu parametrów eksploatacyjnych oczyszczalni ścieków na zbiorowisko bakterii osadu czynnego. W ramach pierwszego, przez rok analizowano osad czynny z oczyszczalni ścieków miejskich z symultaniczną nityfikacją i denityfikacją. Wyniki badań molekularnych korelowano z danymi technologicznymi z obiektu. Wykazano, że skład zbiorowiska AOB nie zmieniał się w ciągu roku, pomimo wahań temperatury. W biomacie identyfikowano głównie gatunek *Nitrosospira* sp. REGAU. Temperatura i obciążenie osadu czynnego ładunkiem związków organicznych determinowało natomiast liczebność bakterii nityfikacyjnych I fazy. Wyniki badań opublikowano w *Polish Journal of Microbiology* (II.A.13). Drugi z eksperymentów obejmował 9 oczyszczalni ścieków komunalnych różniących się wielkością, udziałem ścieków przemysłowych w dopływie oraz rodzajem zastosowanej technologii. Technika PCR-DGGE wykazano, że obecność ścieków przemysłowych w dopływie do obiektu skutkowałą zmniejszeniem zróżnicowania gatunkowego AOB w osadzie czynnym. Kluczowym czynnikiem wpływającym na strukturę gatunkową bakterii denityfikacyjnych był typ technologii oczyszczania ścieków - najwyższą różnorodność odnotowano w systemach z wydzielonymi komorami denityfikacji. Wyniki zaprezentowano w pracy, której byłam autorem korespondencyjnym, opublikowanej w *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (II.A.3). Na podkreślenie zasługuje fakt, że uzyskane dane mają charakter aplikacyjny



i mogą być wykorzystane do projektowania nowych oraz modyfikacji istniejących układów oczyszczania ścieków w skali technicznej.

Ważnym obszarem moich badań jest określenie wpływu czynników fizyko-chemicznych stosowanych do intensyfikacji przemian biologicznych w systemach oczyszczania ścieków na zbiorowiska mikroorganizmów. W ramach grantu II.J.12, którego byłam współwykonawcą, wykazałam, że nietermiczne efekty promieniowania mikrofalowego istotnie wpływają na strukturę gatunkową bakterii w biomacie (analiza PCR-DGGE) oraz na efektywność pracy bioreaktorów z błoną biologiczną. Zastosowanie promieniowania mikrofalowego powodowało wzrost zróżnicowania gatunkowego mikroorganizmów zasiedlających biomasę, co zwiększało stabilność oczyszczania ścieków. Rezultaty badań opublikowano w *Process Biochemistry* (II.A.17) oraz zamieszczono w raporcie II.F.9.

W 2011 roku kontynuowałam badania zbiorowisk *Archaea* metanogennych w błonie biologicznej reaktorów beztlenowych ogrzewanych konwekcyjnie lub mikrofalowo. Badania realizowano w ramach grantu KBN (II.J.7). Reaktory z zanurzonym oraz ze zraszanym złożem biologicznym były eksploatowane w temperaturze 35°C. Ogrzewanie mikrofalowe powodowało wzrost efektywności oczyszczania ścieków oraz zwiększenie zróżnicowania *Archaea* metanogennych. W reaktorach ogrzewanych mikrofalowo identyfikowano mikroorganizmy z rodzaju *Methanosarcina*. Najwyższą efektywność fermentacji uzyskano w reaktorach zraszanych ogrzewanych mikrofalowo, w których liczebność, jak i zróżnicowanie gatunkowe *Archaea* metanogennych były najwyższe. O składzie gatunkowym zbiorowisk bakteryjnych w błonie biologicznej w większym stopniu decydował typ reaktora niż rodzaj ogrzewania. Rezultaty badań opublikowałam w *Journal of Industrial Microbiology* (II.A.9).

Badalam skład gatunkowy *Archaea* metanogennych w reaktorach oczyszczających ścieki mleczarskie w zależności od temperatury, sposobu ogrzewania i obciążenia ładunkiem związków organicznych. Badania prowadzono w reaktorze hybrydowym, w którym biomasa występowała w formie zawieszanej oraz osiadłej jako błona biologiczna. Temperatura i mikrofalowy sposób ogrzewania były głównymi czynnikami wpływającymi na zmiany liczebności i różnorodności zbiorowiska metanogenów. W warunkach ogrzewania mikrofalowego, w temperaturze 35°C wysoka liczebność i różnorodność *Archaea* w biomacie beztlenowej powodowała istotnie wyższą produkcję biogazu o dużej zawartości metanu. Podnoszenie temperatury procesu z 35°C do 55°C nie wpłynęło na produkcję biogazu, spowodowało natomiast zmiany w zbiorowisku metanogenów, np. zniknięcie z biomasy *Methanoculleus palmolei* i pojawienie się gatunku *Methanosarcina thermophila*. Stosowanie mikrofal w warunkach termofilowych promowało obecność w biomacie *Methanosarcina harudinacea*. Wyniki zaprezentowano w pracy, której byłam autorem korespondencyjnym,

opublikowanej w *Bioresource Technology* (II.A.5), w raporcie II.F.5 i prezentowano na międzynarodowej konferencji (II.L.5).

Wyniki dotyczące zastosowania mikrofal jako czynnika wspomagającego procesy oczyszczania ścieków posłużyły do sformułowania problemu badawczego realizowanego w ramach programu strategicznego (III.A.1). Rezultaty uzyskane w ramach projektu strategicznego wykorzystano do napisania rozdziału monografii (II.E.1) oraz doniesienia konferencyjnego, którego abstrakt opublikowano w *New Biotechnology* (III.B.7).

W ostatnich latach poszerzyłam tematykę badawczą o zagadnienia związane z unieszkodliwianiem odpadów. Wyniki dotyczące badań nad odpadami poliolefinowymi prezentowano na forum czasopisma branżowego *Gaz, Woda i Technika sanitarna* (II.E.8, II.E.9). Jestem współautorem projektu finansowanego przez NCN pt. „Stabilizacja beztlenowa frakcji wielkościowych wydzielonych podczas mechanicznej obróbki zmieszanych odpadów komunalnych” (II.J.6). W ramach projektu analizowałam skład gatunkowy zbiorowiska *Archaea* metanogennych w biomacie z wykorzystaniem techniki PCR-DGGE. Badania zespołu wykazały wpływ wielkości ziarna frakcji odpadów komunalnych na udział *Bacteria*, *Archaea*, *Methanosarcinaceae*, *Methanosaeta* oraz *Methanobacteriaceae* w fermentowanej masie odpadów. Spośród mikroorganizmów metanogennych najliczniejszą grupę stanowiły *Methanobacteriaceae*. Najwyższą zawartość związków organicznych we frakcji odpadów 20-80 mm promowała najwyższą różnorodność zbiorowiska *Archaea* metanogennych, przy jednoczesnej najwyższej produkcji bogatego w metan biogazu. Wyniki zaprezentowano na międzynarodowych konferencjach (II.L.3, III.B.2) oraz w raporcie II.F.4. Jestem autorem korespondencyjnym publikacji zawierającej rezultaty omawianych badań, która jest obecnie w recenzji w czasopiśmie *Biochemical Engineering Journal*. Integracja danych chemicznych oraz wyników analiz molekularnych umożliwiła wybór optymalnego wariantu technologicznego oraz określenie składu mikroorganizmów, warunkującego stabilność przemian podczas współfermentacji odpadów stałych i osadów ściekowych. Obecnie wdrażam technologię granul tlenowych do oczyszczania odcieków, powstających podczas składowania odpadów. Pierwsze rezultaty badań zaprezentowałam na międzynarodowej konferencji (III.B.1).

Zainicjowana w roku 2012 współpraca z zespołem naukowców z Katedry Zaopatrzenia w Wodę i Usuwania Ścieków Politechniki Lubelskiej zaowocowała podjęciem badań finansowanych w ramach grantu (III.F.1), dotyczących zbiorowisk mikroorganizmów rozwijających się w systemie wodociągowym doprowadzającym wodę podziemną w zależności od doboru tworzywa sztucznego, z jakiego wykonane są rury (PVC, PEX i HDPE). Przy wykorzystaniu technik biologii molekularnej, analiz biochemicznych oraz obserwacji mikroskopowych wykazano, że najgrubsza błona biologiczna tworzyła się w rurach z HDPE; bakterie w błonie były przyłączone do depozytów mineralnych lub

zanurzone w matrycy polimerów zewnątrzkomórkowych. Identyfikacja mikroorganizmów wykazała, że rury z HDPE mogą być źródłem skażenia wody potencjalnymi patogenami takimi jak *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* sp. *P. aeruginosa* występował także na powierzchni rur PVC. Największą liczbę komórek bakteryjnych obserwowano na powierzchni rur z PEX. Wśród bakterii identyfikowano *Sphingomonadales* i *Methylophilaceae*, co wskazuje na wymywanie z rur PEX związków organicznych, które wymienione bakterie wykorzystują jako substrat. Badania opublikowano w *Word Journal of Microbiology and Biotechnology* (II.A.1).

Obecnie moje zainteresowania badawcze koncentrują się na wykorzystaniu wysokosprawnego sekwencjonowania do badania biocenozy technicznych. Z podstawami techniki pirosekwencjonowania zapoznałam się na stażu naukowym pod kierunkiem prof. Stephena Cummingsa w School of Life Sciences w University of Northumbria w Wielkiej Brytanii (III.L.6). Podczas stażu, oprócz pirosekwencjonowania, poznałam metody statystycznego opracowywania wyników badań molekularnych oraz udoskonaliłam warsztat związany z PCR-DGGE. Zdobytą wiedzę odnośnie wysokosprawnego sekwencjonowania poszerzałam na kursie III.L.5. Pierwsze wyniki zastosowania pirosekwencjonowania w badaniach zbiorowisk mikroorganizmów osadu granulowanego przedstawiłam w publikacji I.A.1.

Udokumentowane doświadczenie we wdrażaniu technik biologii molekularnej w badaniach biomasy w systemach oczyszczania ścieków zaowocowało zaproszeniem od prof. Stephena Cummingsa (Northumbria University, Wielka Brytania) do napisania rozdziału książki wydanej przez Humana Press (II.E.4). Jestem także współautorką rozdziału w monografii „Trendy w biotechnologii środowiskowej” (II.E.3). W obu pracach zaprezentowano możliwości wykorzystania technik biologii molekularnej w badaniach liczebności i struktury gatunkowej zbiorowisk mikroorganizmów w biocenozy hodowanych w warunkach technicznych oraz przedstawiono wkład tych technik w poszerzenie wiedzy na temat interakcji między mikroorganizmami w systemach oczyszczania ścieków w zależności od parametrów operacyjnych procesu. Wyniki doświadczeń zespołu dotyczące wykorzystania technik molekularnych w kontroli oczyszczania ścieków zaprezentowano w referacie wygłoszonym na krajowej konferencji naukowej (II.L.4). Rezultaty badań molekularnych biocenozy technicznych wspomagają wnioskowanie o mechanizmach prowadzących do usuwania zanieczyszczeń ze ścieków, jak też, w powiązaniu z badaniami technologicznymi, dostarczają danych do projektowania i modelowania procesów oczyszczania ścieków.

**Wykorzystanie złożonych zbiorowisk mikroorganizmów do doskonalenia technologii biologicznego oczyszczania ścieków komunalnych i wód nadosadowych, w tym do usuwania trudno rozkładalnych związków organicznych ze ścieków.**

Oprócz analizy zbiorowisk mikroorganizmów w systemach oczyszczania ścieków, prowadzę badania mające na celu poprawę efektywności i szybkości biologicznego usuwania związków węglowych i azotowych ze ścieków komunalnych i wód nadosadowych w wyniku sterowania parametrami operacyjnymi. W badaniach stosowano reaktory o odmiennej konstrukcji zasiedlone osadem czynnym, tlenowym osadem granulowanym lub biomasą unieruchomioną w sposób aktywny lub naturalny w formie błony biologicznej.

Problematyką granul tlenowych zajęłam się po doktoracie. Bardzo wysoka konkurencyjność tlenowej biomasy granulowanej w stosunku do osadu czynnego była bodźcem rozwoju badań nad określeniem parametrów technologicznych sprzyjających efektywnej granulacji, jak również dynamiki przemian związków biogenych w wielowarstwowej strukturze granuli. Wraz z opiekunem naukowym prof. dr hab. Ireną Wojnowską-Baryłą jako pierwsze w Polsce raportowałyśmy wyniki z badań nad granulacją tlenową. W pierwszej z prac (II.A.16) osad granulowany hodowano z wykorzystaniem frakcji glicerynowej powstałej przy produkcji biodiesla. Po 7 tygodniach hodowli w warunkach tlenowych w reaktorze porcjowym uzyskano osad granulowany charakteryzujący się indeksem osadu na poziomie  $40-50 \text{ cm}^3/\text{g s.m.}$  Przy obciążeniu biomasy ładunkiem zanieczyszczeń  $1,43 \pm 0,1 \text{ g ChZT}/(\text{g s.m.}\cdot\text{d})$ , efektywność usuwania związków węglowych wyniosła około 94%. Analiza sitowa wykazała, że 60% masy osadu czynnego stanowiły granule o średnicy 4-8 mm. Prędkości opadania oraz masy granul wzrastały ze wzrostem ich średnicy, jednocześnie jednak następował spadek gęstości granul. Wyniki badań nad granulacją tlenową z wykorzystaniem gliceryny odpadowej jako źródła węgla prezentowałam na konferencji międzynarodowej (III.B.18). W drugiej z prac (II.E.14) hodowałam granule na mieszaninie wód nadosadowych i ścieków syntetycznych uzyskując granulację po około 50. dniach hodowli. Efektywność usuwania węgla wyniosła 60%, natomiast fosfor usuwany był ze sprawnością 50%, wskazując na kumulację polifosforanów w komórkach mikroorganizmów. W badaniach wykazano, że okresowe wprowadzanie do reaktora inokulum bakterii nitryfikacyjnych I fazy zwiększało sprawność utleniania azotu amonowego przez osad granulowany. W dalszych badaniach opracowałam podstawy hodowli tlenowej biomasy granulowanej oraz parametry operacyjne tej technologii, umożliwiające efektywne oczyszczanie ścieków, w szczególności o niskim stosunku ChZT/N i wysokim stężeniu azotu amonowego. Ten obszar badań został szczegółowo opisany w punkcie 4.b autoreferatu. Wyniki badań prezentowałam na szeregu konferencji międzynarodowych (II.L.1, II.L.6, III.B.14, III.B.11, III.B.10, III.B.8, III.B.5, III.B.4).

Obecnie prowadzę badania finansowane z grantu NCN (II.J.1), dotyczące udziału polimerów zewnątrzkomórkowych w strukturze osadu granulowanego w zależności od dostępności związków węglowych w ściekach.

Kierowałam trzema projektami badawczymi finansowanymi ze środków KBN oraz NCN (II.J.2, II.J.4, II.J.9), dotyczącymi rozwoju technologii granulacji w warunkach tlenowych. Szeroki zakres informacji o technologii granulacji tlenowej w inżynierii środowiska zaprezentowałam w rozdziale monografii „Trendy w biotechnologii środowiskowej” (II.E.2), którego jestem współautorką. Najnowsze dane dotyczące podstaw granulacji tlenowej oraz postępów w implementacji tej technologii w skali technicznej aktywnie publikuję w polskojęzycznych czasopismach branżowych (II.E.11, II.E.16, II.E.7). Wyniki badań nad granulacją tlenową prezentuję także w mediach elektronicznych (II.E.20, II.E.22) oraz czasopismach popularno naukowych (II.E.21).

Jako współwykonawca projektu KBN pt. „Wykorzystanie częściowej nitrifikacji i denitryfikacji heterotroficznej do usuwania azotu ze ścieków o niskim stosunku ChZT/N metodą osadu czynnego” (II.J.10) pracowałam nad wyznaczeniem efektywności oczyszczania wód nadosadowych, a także mieszaniny wód nadosadowych oraz ścieków komunalnych, w zależności od stopnia wymiany objętościowej ścieków i długości faz napowietrzania i mieszania w cyklu pracy reaktora porcjowego, w warunkach niskiego stężenia tlenu ( $0,7 \text{ mg O}_2/\text{dm}^3$ ) w fazie napowietrzania. Wyniki badań mikrobiologicznych biomasy opisałam w części Autoreferatu poświęconej badaniom molekularnym biocenoz technicznych. Wyniki badań technologicznych wykazały, że w reaktorach, do których wprowadzano mieszaninę wód nadosadowych i ścieków komunalnych, eksploatowanych przy 24-godzinnej długości cyklu i naprzemiennych 7-godzinnych fazach napowietrzania i 1-godzinnych fazach mieszania, niezależnie od przyjętego stopnia wymiany objętościowej, uzyskano pełną nitrifikację oraz 40% efektywność usunięcia utlenionych form azotu. Wprowadzanie do reaktorów porcjowych wód nadosadowych w warunkach obniżonego stężenia tlenu w fazie napowietrzania umożliwiło uzyskanie odpływu z reaktorów o proporcji  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_2^-$  na poziomie 1:1 oraz stosunku ChZT/N na poziomie 1, co czyniło ścieki oczyszczone bardzo dobrym dopływem do reaktora Anammox. Wyznaczono także kinetykę przemian związków azotu w osadzie czynnym w warunkach eksperymentalnych oraz aktywność bakterii auto- i heterotroficznych w osadzie czynnym metodą respirometryczną. Wyniki badań opublikowano w *Bioresource Technology*, *Desalination and Water Treatment*, *Environment Protection Engineering* oraz *Archives of Environmental Protection* (II.A.14, II.A.12, II.A.10, II.A.4), a także w rozdziale monografii „Biotechnologia środowiskowa” (II.E.6). Wyniki zaprezentowano również na konferencjach krajowych i międzynarodowych (III.B.19, III.B.15, III.B.12, III.B.9); jeden z abstraktów (III.B.12) opublikowano w *Journal of Biotechnology*. Problemy pojawiające się podczas oczyszczania strumieni ścieków

o niskim stosunku ChZT/N i wysokim stężeniu azotu amonowego, potencjalne metody ich zagospodarowania i stosowane rozwiązania technologiczne zostały szczegółowo zaprezentowane w artykułach w czasopiśmie branżowym *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* (II.E.12, II.E.13).

Oczyszczanie ścieków w warunkach obniżonego stężenia tlenu pozwala na zmniejszenie kosztów napowietrzania, stanowiących istotną pozycję w budżecie oczyszczalni ścieków. Testy respirometryczne prowadzone przy stosunku ChZT/N w ściekach równym 0,7 oraz 6,8 oraz stężeniach tlenu w fazie napowietrzania 0,5 i 1,5 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> wykazały, że zarówno stosunek ChZT/N w ściekach, jak i stężenie tlenu w fazie napowietrzania wpływały na aktywność mikroorganizmów auto- i heterotroficznych. Przy obu stężeniach tlenu w reaktorze efektywność usuwania azotu amonowego przekraczała 90%, a głównym produktem procesu był azot azotanowy(V). Najlepsze efekty oczyszczania ścieków, w tym usunięcia azotu, notowano przy stosunku ChZT/N w ściekach równym 6,8 i stężeniu tlenu 0,5 mg/dm<sup>3</sup>, typując te parametry operacyjne reaktora porcjowego jako umożliwiające obniżenie kosztów napowietrzania przy jednocześnie wysokiej efektywności oczyszczania ścieków. Wyniki opublikowano w *Environment Protection Engineering* (II.A.8), a także zaprezentowano na konferencji międzynarodowej (III.B.16).

Alternatywnym typem biomasy w stosunku do osadu czynnego jest biomasa unieruchomiona. Cechy biomasy unieruchomionej, takie jak wysoka koncentracja, długi wiek oraz retencja wolno rosnących bakterii nityfikacyjnych sprzyjają usuwaniu trudno rozkładalnych zanieczyszczeń organicznych ze ścieków. Pierwsze badania z wykorzystaniem biomasy unieruchomionej prowadziłam jako współwykonawca projektu KBN pt. „Nityfikacja w systemach oczyszczania ścieków z biomasą immobilizowaną” (II.J.11). W badaniach wykorzystano reaktor z nośnikiem ceramicznym, na którym aktywnie immobilizowano osad czynny. Badania prowadzono stosując dwa rodzaje ścieków. Pierwsze ścieki nie zawierały organicznych źródeł węgla i miały stężenie ChZT na poziomie 50 mg/dm<sup>3</sup> i około 60 N<sub>og</sub>/dm<sup>3</sup>, w drugim przypadku do ścieków dodawano octan sodu, co skutkowało wzrostem ChZT do 400 mg/dm<sup>3</sup>. Zastosowanie HRT równego 1,5 h w obecności związków organicznych w ściekach nie powodowało obniżenia efektywności utleniania azotu amonowego. Stosowanie najkrótszego HRT (0,5 h), niezależnie od składu ścieków, powodowało kumulację azotu amonowego w odpływie z reaktora. W przypadku ścieków nie zawierających węgla organicznego notowano dodatkowo kumulację azotu azotanowego(III). Bilans związków azotowych w reaktorze wskazywał, że w obecności octanu w ściekach następowało usuwanie utlenionych form azotu w wyniku denityfikacji. Zmiana HRT i składu ścieków kształtowała zbiorowiska mikroorganizmów, decydujące o efektywności oczyszczania ścieków przez biomasę immobilizowaną. Wyniki zaprezentowano w publikacji (II.A.6) i sprawozdaniu z badań (II.F.8).

Prowadziłam badania nad wykorzystaniem reaktorów z aktywnie unieruchomioną biomasą w usuwaniu ze ścieków trudno rozkładalnych związków endokrynnych, które już w mikrostężeniach mogą zaburzać gospodarkę hormonalną organizmów. W badaniach wykorzystano bisfenol A (BPA, 2,2-bis-4-hydroksyfenylopropan), który jest wytwarzany na masową skalę i wykorzystywany w produkcji poliwęglanowych tworzyw sztucznych i żywic epoksydowych. Głównym punktowym źródłem BPA w wodach naturalnych są ścieki komunalne i przemysłowe. Dotychczas prowadzone badania biodegradacji BPA wyjaśniają mechanizmy usuwania związku przez czyste kultury mikroorganizmów. Brakuje danych o drobnoustrojach odpowiedzialnych za biodegradację BPA w złożonych zbiorowiskach mikroorganizmów stosowanych w systemach biologicznego oczyszczania ścieków. W projekcie badawczym NCN pt. „Wykorzystanie układu hybrydowego (biomasa unieruchomiona – systemy membranowe) do usuwania bisfenolu A ze ścieków” (II.J.5), w którym byłam głównym wykonawcą, przedstawiono propozycję zintegrowanego dwustopniowego układu technologicznego, zapewniającego efektywne usuwanie BPA ze ścieków. Pierwszy stopień układu zintegrowanego stanowił reaktor z biomasą unieruchomioną, charakteryzującą się długim wiekiem oraz wysoką aktywnością nityfikacyjną. W związku z ryzykiem wtórnego zanieczyszczenia środowiska zawiesinami z zasorbowanym BPA w ściekach oczyszczonych, drugi stopień układu zintegrowanego stanowiły moduły z ceramiczną membraną do mikrofiltracji (MF) lub nanofiltracji (NF). W badaniach zmieniano stężenie BPA w ściekach dopływających do układu technologicznego w zakresie od 0 do 10,0 mg BPA/dm<sup>3</sup>.

Zwiększanie stężenia BPA w ściekach obniżyło szybkość i sprawność nityfikacji, przy jednoczesnym wzroście efektywności usuwania BPA. Wyniki technologiczne i wyniki badań molekularnych wykazały ograniczony udział bakterii nityfikacyjnych i zjawiska ko-metabolizmu w usuwaniu BPA. Obecność wzrastających stężeń BPA powodowała stopniowe zmiany w składzie AOB. Za utlenianie BPA były odpowiedzialne bakterie heterotroficzne, na co wskazuje wzrost szybkości zużycia tlenu w miarę wzrostu stężenia BPA w warunkach inhibicji nityfikacji. W wyniku filtracji membranowej ścieków biologicznie oczyszczonych uzyskano całkowite usunięcie zawiesin oraz 40-60% usunięcie ChZT. Niezależnie od początkowego stężenia BPA w ściekach i właściwości separacyjnych membran, całkowita efektywność usuwania BPA w układzie zintegrowanym biomasa unieruchomiona – filtracja membranowa przekroczyła 90%, co wskazuje na zasadność stosowania tego rozwiązania. Wyniki badań opublikowano w *Bioresource Technology* (II.A.2), a także zaprezentowano na międzynarodowych konferencjach naukowych (II.L.2, III.B.6) oraz w raporcie II.F.3.

Wyniki badań w reaktorze z biomasą unieruchomioną wykazały hamowanie utleniania azotu amonowego przy najwyższych stężeniach bisfenolu A w ściekach. Obecność wielu poziomów

troficznych oraz bogactwo gatunkowe granul tlenowych powoduje, że w systemach z granulami tlenowymi może występować szersze spektrum mechanizmów degradacji BPA. Uzyskałam finansowanie kierowanego przeze mnie projektu, dotyczącego wykorzystania tlenowej biomasy granulowanej do usuwania BPA ze ścieków (II.J.2). Zaproponowałam nowatorską technologię, łączącą oczyszczanie ścieków metodą tlenowego osadu granulowanego z doczyszczaniem filtracją membranową. Planowana w badaniach wielokierunkowa analiza molekularna zbiorowisk mikroorganizmów osadu granulowanego poddanego ekspozycji na BPA, w połączeniu z wynikami analiz fizyko-chemicznych, pozwoli wyodrębnić główne drogi usuwania BPA ze ścieków przez tlenowe granule. Badania wykażą, jak zmienia się skład gatunkowy i liczebność wybranych grup bakterii w strukturze granul tlenowych w zależności od stężenia BPA w ściekach. Określony zostanie wpływ stężenia BPA na aktywność drobnoustrojów w biomasie, zidentyfikowane zostaną także gatunki mikroorganizmów posiadające potencjał metabolizowania BPA. Uzyskane dotychczas wyniki wykazały, że zastosowanie granul tlenowych umożliwia pełną nityfikację w układzie nawet przy stężeniu BPA w ściekach równym 12 mg/dm<sup>3</sup>.

Podsumowując działalność naukowo-badawczą chcę podkreślić, że badania nad biologicznym unieszkodliwianiem ścieków i odpadów były realizowane w szerokim zakresie i obejmowały, oprócz określenia parametrów technologicznych, efektywności i kinetyki procesów, także charakterystykę zbiorowisk mikroorganizmów odpowiedzialnych za procesy unieszkodliwiania. Takie podejście badawcze umożliwia łączenie elementów poznawczych i aplikacyjnych w praktyce inżynierskiej. Prowadzone przeze mnie badania mają charakter interdyscyplinarny, łącząc wykorzystanie nowoczesnych narzędzi analitycznych do monitorowania mechanizmów usuwania zanieczyszczeń z badaniami składu gatunkowego, liczebności oraz aktywności zbiorowisk mikroorganizmów biorących udział w procesach biodegradacji zanieczyszczeń. Wyniki badań znacząco poszerzają wiedzę o mikrobiologicznych podstawach oraz mechanizmach usuwania zanieczyszczeń, szczególnie w systemach oczyszczania ścieków z tlenowym osadem granulowanym. Współpraca podejmowana z różnymi zespołami badawczymi pozwala na wielopoziomowe badania technologiczne, wyjaśnianie mechanizmów przemian metabolicznych i kształtowania się składu gatunkowego biocenozy technicznych i jest źródłem doświadczeń aplikacyjnych.

Aktywnie współpracuję z podmiotami gospodarczymi, by promować zdobyte doświadczenia badawcze oraz wdrażać proekologiczne technologie oczyszczania ścieków. W 2009 roku odbyłam staż wdrożeniowy w przedsiębiorstwie Grontmij Polska Sp. z o. o. (III.F.2), związany z wprowadzeniem nowoczesnych rozwiązań technologicznych umożliwiających zintegrowane usuwanie substancji biogenych ze ścieków komunalnych w Miejskiej Oczyszczalni Ścieków w Olsztynie. W roku 2014 przez 3 miesiące uczestniczyłam w programie szkoleniowo-doradczym pt. „PI Innowacje Przyszłością



Regionu”, którego celem było wsparcie współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw (III.L.4). W ramach programu miałam możliwość prezentacji wyników badań i opracowanych rozwiązań technologicznych, wraz z wyczerpującą analizą prawną i ekonomiczną, grupie przedsiębiorców zainteresowanych inwestycjami w nowe technologie. Nawiązane kontakty biznesowe zaowocowały podjęciem współpracy z partnerem branżowym i prowadzeniem przeze mnie rozruchu technologicznego obiektów pracujących w skali technicznej (II.B.1, II.B.2). Wykonywałam ekspertyzy (III.M.1, III.M.2, III.M.3) i opracowania na zamówienie podmiotów gospodarczych (III.M.4). Prowadziłam także szkolenie pt. „Wybrane zagadnienia analizy sensorycznej wody pitnej” dla jednostek gospodarczych na zlecenie Krajowego Związku Spółdzielni Mleczarskich (III.I.18).

W trakcie pracy badawczej odbyłam międzynarodowe i krajowe szkolenia i staże z zakresu wykorzystania technik molekularnych w kontroli biocenoz technicznych (III.L.5, III.L.6, III.L.8, III.L.9, III.L.10) oraz zastosowania metod statystycznych w opracowaniu danych eksperymentalnych (III.L.1, III.L.2).

Opublikowałam 26 prac wyróżnionych przez bazę Journal Citation Reports, posiadających Impact Factor w roku publikacji. Jestem współautorką 13 publikacji zamieszczonych w innych czasopismach recenzowanych oraz 4 publikacji popularno-naukowych. Jestem współautorką 6 rozdziałów w monografiach. W chwili obecnej 2 publikacje są w recenzji. Jestem współautorką 26 referatów, z których 24 były zaprezentowane na międzynarodowych konferencjach i sympozjach naukowych. Łącznie uczestniczyłam, bądź dalej uczestniczę, w 15 projektach i zadaniach badawczych, w tym w 12 projektach KBN/NCN i 1 zadaniu w projekcie strategicznym (NCBiR). W 3 z wymienionych projektów byłam kierownikiem, a w pozostałych pełniłam funkcję głównego wykonawcy lub wykonawcy. Jestem autorką i współautorką 11 dokumentacji prac badawczych. Podejmuję aktywną współpracę z ośrodkami zagranicznymi (II.E.4, III.Q.7, III.Q.9), jak też krajowymi instytucjami naukowymi (III.F.1, III.A.1), podmiotami gospodarczymi (III.F.2, II.B.1, II.B.2) oraz naukowcami z innych Katedr UWM w Olsztynie (II.J.3, II.J.7, II.J.12).

Recenzowałam publikacje naukowe dla takich czasopism jak *Chemosphere* (IF = 3,857), *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (IF = 1,353), *The Scientific World Journal*, *Desalination and Water Treatment* (IF = 0,987), *Environmental Science and Pollution Research* (IF = 2,757), *African Journal of Biotechnology* (IF = 0,570), *Bioprocess and Biosystems Engineering* (IF = 1,823) i *Chemical Engineering Journal* (IF = 4,181). Jestem członkiem komitetów redakcyjnych dwóch czasopism, w tym jednego z listy JCR (IF = 1,353).

Mój sumaryczny Impact Factor według Web of Science wynosi 51,923, indeks Hirscha 6, a liczba cytowań (bez autocytowań) to 107. Według bazy Google Scholar indeks Hirscha wynosi 8,

a liczba cytowań to 178. Sumaryczna liczba punktów MNiSW uzyskana za publikacje naukowe zgodnie z rokiem wydania wynosi 715.

Za osiągnięcia w dziedzinie naukowej zostałam w 2014 roku indywidualnie nagrodzona dyplomem JM Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (II.K.1).

## 6. Osiągnięcia w zakresie popularyzowania nauki

Pracę naukową uzupełniałam aktywną działalnością popularyzatorską, skierowaną głównie na uświadamianie wagi ochrony i rozsądnego gospodarowania zasobami wodnymi oraz kształtowanie postaw prośrodowiskowych. Przeprowadziłam dwie edycje zajęć laboratoryjnych pt. „Skąd się bierze woda w kranie?” na kierunku „Inspiracje” (III.I.16), w ramach Fundacji Uniwersytet Dzieci, która organizuje zajęcia dla dzieci w szkołach wyższych na terenie całej Polski. Byłam także członkiem komitetu programowego 11. Olsztyńskich Dni Nauki i Sztuki i Europejskiej Nocy Naukowców (III.H.1) i prowadziłam warsztaty pt. „Woda – skarb naszej planety” dla dzieci w wieku wczesnoszkolnym (III.I.17).

W ramach popularyzacji nauki prezentowałam wyniki badań, jak też najnowsze trendy w biotechnologii środowiskowej, w periodykach branżowych i popularno-naukowych takich jak *Ekonatura* (II.E.21), *Woda i Ścieki* (II.E.23), *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* (II.E.8, II.E.9, II.E.11, II.E.12, II.E.13, II.E.16), *Inżynieria Ekologiczna* (II.E.7) oraz podczas prezentacji prowadzonych dla przedstawicieli podmiotów gospodarczych (III.L.4). Aktywnie popularyzuję prowadzone badania, także z wykorzystaniem mediów elektronicznych (II.E.20, II.E.22).

## 7. Osiągnięcia w zakresie działalności organizacyjnej

W dotychczasowej pracy zawodowej realizowałam wiele zadań organizacyjnych na rzecz Wydziału Nauk o Środowisku (wcześniej Wydziału Ochrony Środowiska i Rybactwa) UWM w Olsztynie. Podczas studiów doktoranckich pracowałam jako wolontariusz podczas organizacji „The First International Environmental Best Practices Conference” w Olsztynie. W 2009 brałam aktywny udział w pracach zespołu tworzącego katedralną stronę internetową (III.Q.5), pozostając do dnia dzisiejszego jej współopiekunem.

W latach 2012-2014 zostałam powołana do pracy w zespole ds. zapewnienia jakości kształcenia na kierunku ochrona środowiska (III.Q.3). W ramach prac zespołu koordynowałam dostosowanie specjalności biotechnologia środowiskowa na studiach II stopnia do wymogów Krajowych Ram Kwalifikacji. Od marca 2014 pracuję w zespole ds. zapewnienia jakości kształcenia na kierunku inżynieria środowiska nad powołaniem specjalności Environmental Biotechnology na studiach II stopnia (III.Q.1, III.Q.2). W ramach swoich obowiązków współtworzyłam założenia

programowe, jak też przygotowywałam materiały promocyjne. Od 2014 roku pracuję w zespole ds. opracowania wniosku o powołanie kierunku gospodarowanie zasobami wodnymi (III.Q.4).

Od października 2013 r. jestem opiekunem studentów rocznika 2013/2014 na kierunku inżynieria środowiska (III.J.1), a od października 2014 także studentów II roku kierunku ochrona środowiska na Wydziale Nauk o Środowisku (III.J.2), biorąc aktywny udział w przedsięwzięciach organizowanych przez Samorząd Studencki.

Jestem członkiem komitetu redakcyjnego czasopisma *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (IF 1,353, lista JCR, III.G.1), członkiem komitetu redakcyjnego czasopisma *Jacobs Journal of Hydrology* oraz członkiem Chemical, Biological and Environmental Engineering Society (III.H.2). Wchodzę w skład komitetu redakcyjnego 4<sup>th</sup> International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology (ICBEB 2015) (III.C.1). Wchodzę również w skład zespołu oceniającego koncepcje własne praktyk studentów kierunku zamawianego ochrona środowiska w ramach projektu „Kierunek zamawiany receptą na najlepszych ekspertów ochrony środowiska”, realizowanego na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie (III.N.1).

## 8. Omówienie osiągnięć dydaktycznych

W trakcie dotychczasowej pracy na UWM w Olsztynie przygotowywałam oraz prowadziłam zajęcia dydaktyczne z przedmiotów:

- *Technologia wody i ścieków* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Technologia wody i ścieków* (ćwiczenia, kierunek inżynieria środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Uzdatnianie wody* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Projektowanie układów technologicznych oczyszczania wody i ścieków* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Oczyszczanie ścieków i przeróbka osadów* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Technologie hodowli biomasy w systemach oczyszczania ścieków* (wykłady i ćwiczenia, kierunek inżynieria środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Biocenozy techniczne w systemach oczyszczania ścieków* (wykłady i ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Biocenozy techniczne w systemach oczyszczania ścieków* (ćwiczenia, kierunek biotechnologia, Wydział Biologii i Biotechnologii),

- *Inżynieria procesowa* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa),
- *Inżynieria procesowa* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Genetyka* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Toksykologia* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Technologia wody* (ćwiczenia, kierunek ochrona środowiska, Wydział Nauk o Środowisku),
- *Biotechnologiczne unieszkodliwianie odpadów* (wykład, kierunek biotechnologia, Wydział Biologii i Biotechnologii).

*Technologie hodowli biomasy w systemach oczyszczania ścieków oraz Biocenozy techniczne w systemach oczyszczania ścieków* to moje autorskie przedmioty, za których prowadzenie jestem w pełni odpowiedzialna. Celem prowadzonych zajęć jest prezentacja rozwiązań technologicznych stosowanych w oczyszczaniu ścieków, typów biocenoz technicznych w systemach oczyszczania ścieków oraz wpływu parametrów operacyjnych procesu na kształtowanie zbiorowisk mikroorganizmów, a tym samym na efektywność oczyszczania ścieków. Prowadzę też ćwiczenia zapoznające studentów z technikami biologii molekularnej.

Warsztat dydaktyczny doskonaliłam na półrocznym kursie pedagogicznym (III.L.7) oraz na szkoleniu współfinansowanym ze środków unijnych, nakierowanym na koordynowanie działań związanych z procesem powstawania prac dyplomowych (III.L.3).

Inspirującym wyzwaniem w mojej pracy dydaktycznej jest prowadzenie od roku akademickiego 2008/2009 ćwiczeń w języku angielskim z przedmiotu *Analytical Methods in Biological Systems*, na międzynarodowych studiach II stopnia na specjalności Process Engineering, Environmental Protection and Biotechnology realizowanych przez Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie i Offenburg University of Applied Sciences (III.I.14).

W roku 2014 zostałam zaproszona do przeprowadzenia szkolenia z zakresu ochrony środowiska w ramach projektu „Inżynieria chemiczna i procesowa – perspektywiczne kształcenie specjalistów dla przetwórstwa żywności” dla studentów kierunku zamawianego realizowanego na Wydziale Nauk o Żywności UWM w Olsztynie (III.I.15).

Byłam opiekunem naukowym 5 prac inżynierskich oraz 11 prac magisterskich na kierunkach ochrona środowiska, biotechnologia oraz na specjalności międzynarodowej Process Engineering, Environmental Protection and Biotechnology (III.J.3, III.J.4, III.J.5, III.J.6, III.J.7). Obecnie sprawuję opiekę nad realizacją 3 prac inżynierskich oraz 1 pracy magisterskiej. Wielokrotnie byłam członkiem komisji na egzaminach inżynierskich i magisterskich. Za swój duży sukces dydaktyczny uważam fakt, że 3 moich dyplomantów podjęło studia III stopnia. Aktywnie uczestniczę w szkoleniu kadry

naukowej, pełniąc od 2013 roku funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim (III.K.1), realizowanym na Wydziale Biologii i Biotechnologii UWM w Olsztynie.