

Кобызева Н.В.<sup>1</sup>, Гатауллин А.Г.<sup>1</sup>, Силищев Н.Н.<sup>1</sup>, Логинов О.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

<sup>2</sup>ГУП «Опытный завод Академии наук Республики Башкортостан», г. Уфа

## РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ОЧИСТКИ СТОЧНОЙ ВОДЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ МИКРОФЛОРЫ

**Разработана технология и этапы очистки сточной воды уфимского ОАО «Стеклонит». Изучено влияние различных адсорбентов на жизнеспособность иммобилизованных микроорганизмов. Полученные данные показали эффективность использования иммобилизованной микрофлоры.**

**Введение.** В окружающую среду поступает огромное количество загрязняющих веществ, которые характерны для большинства промышленных городов и предприятий, нефтезагрязнений при добыче нефти и разведочном бурении.

Скорость накопления нефтепродуктов в результате техногенного загрязнения в водных и почвенных экосистемах далеко опережает скорость их биодegradации естественным путем, а существующие технологии не позволяют справляться с такими загрязнениями быстро и эффективно. Для ускорения процессов очистки и восстановления водных экосистем необходимо использовать биологические резервы не только микробных клеток, но и микробных сообществ и биоценозов [8].

Очистка воды в природе – неперемное звено в цикле водооборота. Загрязнение поверхностных вод различными токсикантами – один из показателей общего ухудшения состояния природной среды.

В настоящее время все более широкое применение в практике находят природоохранные биотехнологии с использованием закрепленной (иммобилизованной) микрофлоры на различных носителях (активированный уголь, керамзит, поролон, различные синтетические и полимерные волокна и др.) [6]. Закрепление клеток микроорганизмов позволяет осуществлять сложные многостадийные процессы, обуславливает лучшую защищенность клеток от воздействия отрицательных факторов, создает высокую концентрацию клеток в реакторе [5, 7].

Важным преимуществом использования системы закрепленных клеток является их устойчивость к перепадам гидравлической нагрузки и залповым поступлениям загрязнений, к токсичным субстратам, увеличение жизнеспособности и активности иммобилизованных микроорганизмов.

Перспективным направлением интенсификации процессов биологической очистки сточ-

ных вод, содержащих трудноокисляемые и токсичные вещества, является биосорбционный метод, осуществляемый путем добавления порошкообразного или гранулированного активированного угля или керамзита в зону аэрации. Добавленный материал в данном случае выполняет двойную функцию: во-первых, является носителем иммобилизованных микроорганизмов; во-вторых, благодаря его большой сорбционной емкости обеспечивается быстрая адсорбция токсичного субстрата.

**Цель исследования:** разработка технологии локальной очистки сточных вод с использованием микроорганизмов, иммобилизованных на различных носителях.

**Материалы и методы.** Биопрепарат «Леннойл» [1, 2] с титром живых клеток  $10^8$  КОЕ/мл и бактерии рода *Serratia* –  $10^8$  КОЕ/мл [3].

Минеральные соли, входящие в состав среды Раймонда (г/л):  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – 0,1,  $\text{CaCl}_2$  – 0,01,  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,02,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,02,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  – 1,5,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 2,0. В качестве модельного загрязнения использовали различные образцы нефтепродуктов в количестве 1% от общего объема и сточную воду уфимского ОАО «Стеклонит».

Процесс иммобилизации проводили с помощью **адсорбционного метода**, заключающегося в прокачивании (с рециклом) суспензии клеток через воронку, заполненную адсорбентом. Адсорбент помещают в делительную воронку вместимостью 250 мл, затем заполняют суспензией клеток.

Процесс проводили в нестерильных условиях при температуре 18-20 °С.

Модельные опыты по локальной очистке воды – в стеклянном ферментере АК-210, рабочий V = 8 л при 28 °С, постоянном перемешивании и аэрации (компрессор AIR-PUMP AC-4000). Для этих исследований ферментер был несколько модернизирован: внутрь аппарата вмонтирована металлическая трубка для созда-

ния турбулентного потока, обеспечивающая смешение жидкости и воздуха и омывающая носитель с иммобилизованной микрофлорой.

Для оценки интенсивности разложения нефтепродуктов использовали показатель остаточного содержания углеводов в сточной воде, определяемый весовым методом после экстракции хлористым метиленом.

Интенсивность аэрации оценивали методом определения сульфитного числа [4].

### Результаты и обсуждение

К перспективным методам интенсификации процессов биохимической очистки сточных вод без значительных капитальных затрат относится использование высоких концентраций биомассы на носителе. Замена свободно культивируемых клеток на иммобилизованные увеличивает производство от необходимости регулярного наращивания биомассы.

Проведена иммобилизация микроорганизмов на различных твердых адсорбентах различными способами: нанесения в воронке, с перемешиванием и статическим способом. Установлено, что способ нанесения в воронке является оптимальным, обеспечивая наибольшее значение относительной массы адсорбированных

бактерий. В дальнейшем указанный способ был использован в качестве основного. Результаты эксперимента представлены в таблице 1 и 2.

Для определения видового состава консорциума микроорганизмов биопрепарата «Ленойл», адсорбированных на различных адсорбентах, иммобилизованные бактерии смывали стерильной водопроводной водой, после чего определяли стандартным методом численность каждого из штаммов микроорганизмов, входящих в состав консорциума.

Доказано, что иммобилизация микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» на адсорбентах, использованных в исследованиях, не приводит к изменению видового состава консорциума бактерий *Bacillus brevis* и *Arthrobacter species* ИБ ДТ 5, характерного для биопрепарата «Ленойл» по ТУ 9291-016-22657427-2002.

Также в результате проведенных исследований по иммобилизации консорциума микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia species* ИБ 3-1 установлено, что изученные адсорбенты независимо от их природы не влияют на жизнеспособность клеток бактерий. При этом титр клеток микроорганизмов во всех вариантах иммобилизации на различных носителях колеблется в пределах  $10^6$ - $10^7$  КОЕ/мл.

Таблица 1. Способность микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» к адсорбции на различных сорбентах

Вид адсорбента	Относительная масса адсорбированных микроорганизмов, мг/г
Керамзит по ТУ 5712-016-20672718-2003 (Уфа)	26,16
Активированный уголь ТУ 6-17-5795739-101-89 (Пермь)	9,58
Активированный уголь «CarboMax» фирмы AQUAEL (Brooklin, USA)	2,20
Комбинированный адсорбент «ZeoCarbon» фирмы AQUAEL (Brooklin, USA)	3,64
Пенополиуретан (поролон) ТУ 2254-001-42816520-99	122,31
Синтепон (ООО «Котовский завод нетканых материалов»)	66,21

Таблица 2. Способность бактерий рода *Serratia* к адсорбции на различных сорбентах

Вид адсорбента	Относительная масса адсорбированных микроорганизмов, мг/г
Керамзит по ТУ 5712-016-20672718-2003 (Уфа)	9,51
Активированный уголь ТУ 6-17-5795739-101-89 (Пермь)	24,82
Активированный уголь «CarboMax» фирмы AQUAEL (Brooklin, USA)	2,03
Комбинированный адсорбент «ZeoCarbon» фирмы AQUAEL (Brooklin, USA)	3,97
Пенополиуретан (поролон) ТУ 2254-001-42816520-99	139,64
Синтепон	86,46

Биологическую очистку сточной воды целесообразно проводить путем ее интенсивной аэрации в емкостях смесительного типа, таких как аэротенки.

Известно, что интенсивность аэрации при использовании микроорганизмов является существенным признаком в процессе очистки сточных вод. Поэтому при переходе на локальную (в ферментере) очистку мы руководствовались определением интенсивности аэрации, для чего определяли сульфитное число, которое является косвенным показателем насыщения раствора кислородом. На степень насыщения жидкости кислородом также влияет интенсивность перемешивания.

В ранних экспериментах показано, что степень биодеструкции по времени процесса и содержанию остаточных углеводов при интенсивности аэрации 3,16 гО<sub>2</sub>/л час являлся оптимальным и составлял 99,52%. При этом отмечено возрастание численности микроорганизмов с 10<sup>3</sup> до 10<sup>7</sup> КОЕ/мл.

Уфимское ОАО «Стеклонит» является специализированным предприятием химической и стекольной промышленности. Одной из технологических операций получения стеклонити является стадия замасливания элементарных стеклянных волокон. Для этих целей широко применяется замасливатель «парафиновая эмульсия», в состав которого входят следующие вещества: парафин, стеарин или синтетические жирные кислоты фракции C<sub>16</sub>–C<sub>18</sub>, вазелин, трансформаторное масло, закрепитель ДЦУ (продукт взаимодействия дициандиамида с формалином в присутствии уксусной кислоты), препарат ОС-20 (смесь полиэтиленгликолевых эфиров высших жирных кислот) и вода.

Поэтому следующим этапом исследования явилось изучение возможности применения иммобилизованной формы биопрепарата «Ленойл» для очистки сточных вод этого предприятия. Работа проводилась в условиях модельного опыта в ферментере.

Первым этапом разработки технологии локальной очистки сточной воды ОАО «Стеклонит» являлось использование метода флотации. Результаты эксперимента представлены в табл. 3.

Полученные данные свидетельствуют о том, что использование метода флотации сточной воды ОАО «Стеклонит» (при аэрации воздухом объема сточной воды в аппарате) позволяет в определенной степени добиться удаления значительной массы загрязняющих веществ на границу раздела жидкой и воздушной фазы.

Степень очистки от углеводов сточной воды, выводимой из нижнего патрубка аппарата, составляет через 3-4 суток эксперимента 64-67 мас. %. Значение ХПК сточной воды в этом эксперименте снизилось с 3810,5 мг/л до 2733,2 мг/л, или на 28,3% от исходной величины.

В дальнейших экспериментах использовалась иммобилизованная форма препарата «Ленойл» на различных носителях (табл. 4).

Как следует из данных таблицы, очистка сточной воды в ферментере с микроорганизмами биопрепарата «Ленойл», иммобилизованными на керамзите, протекает довольно успешно: степень биодеструкции загрязняющих веществ, представляющих собой углеводороды и их производные, за время эксперимента, составляющее 3-4 суток, составила 95,4 мас. %. Показатель ХПК сточной воды в результате очистки снизился при этом с 4523,8 мг/л до 2497,4 мг/л, или на 44,8% от исходной величины.

Степень биодеструкции углеводов и их производных микроорганизмами биопрепарата «Ленойл», иммобилизованными на синтепоне, за 3 суток оказалась равной 99,3 мас. %. Значение ХПК сточной воды в этом эксперименте снизилось с 4881,6 мг/л до 1870,6 мг/л, или на 61,7% от исходной величины.

Степень биодеструкции углеводов и их производных микроорганизмами биопрепарата «Ленойл», иммобилизованными на активированном угле, за 3 суток оказалась равной 99,8 мас. %. Значение ХПК сточной воды в этом

Таблица 3. Очистка сточной воды ОАО «Стеклонит» на лабораторном ферментере с использованием метода флотации

Время эксперимента, сут.	ХПК, мг/л	Содержание остаточных углеводов, мас. %	Степень очистки сточной воды мас. %
Исходное значение	3810,5	5,19	-
1	-	2,36	54,5
2	-	1,97	62,0
3	-	1,83	64,7
4	2733,2	1,70	67,2

Таблица 4. Очистка сточной воды ОАО «Стеклолит» на лабораторном ферментере.

Время эксперимента, сут.	ХПК, мг/л	Содержание остаточных углеводов, мас. %	Степень биодеструкции углеводов мас. %
биопрепарат «Ленойл», иммобилизованный на керамзите			
Исходное значение	4523,8	6,48	-
1		0,33	94,9
2		0,32	95,1
3		0,30	95,4
4	2497,4	0,30	95,4
биопрепарат «Ленойл», иммобилизованный на синтепоне			
Исходное значение	4881,6	5,73	-
1	-	0,14	97,6
2	-	0,11	98,1
3	1870,6	0,04	99,3
биопрепарат «Ленойл», иммобилизованный на активированном угле			
Исходное значение	4012,6	5,56	-
1	-	0,23	95,9
2	-	0,04	99,3
3	841,5	0,01	99,8

эксперименте снизилось с 4012,6 мг/л до 841,5 мг/л, или на 79,0% от исходной величины.

Таким образом, использование в процессе локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклолит» микроорганизмов биопрепарата «Ленойл», иммобилизованных на различных носителях (керамзит, активированный уголь, синтепон), позволяет за сравнительно короткий промежуток времени добиться высокой степени биодеструкции (95,4-99,8 мас. %) загрязняющих веществ, представляющих собой различные углеводороды и их производные. Численность консорциума микроорганизмов *Bacillus brevis* и *Arthrobacter species*, составляющего основу биопрепарата «Ленойл», в очищаемой сточной воде составляла в конце эксперимента величину, равную  $10^7$  КОЕ/мл.

Использование же в процессе локальной

очистки сточных вод ОАО «Стеклолит» бактерий *Serratia species* ИБ 3-1, иммобилизованных на различных носителях (керамзит, активированный уголь, синтепон), также позволяет за сравнительно короткий промежуток времени добиться высокой степени биодеструкции (96,1-99,3 мас. %) загрязняющих веществ, представляющих собой различные углеводороды и их производные. Численность микроорганизмов в очищаемой сточной воде составляла в конце эксперимента величину, равную  $10^5$ - $10^7$  КОЕ/мл.

Таким образом, разработана технология локальной очистки сточных вод на модельной установке, позволяющая эффективно удалять из водной среды различные углеводороды. Подобраны условия аэрации и перемешивания, обеспечивающие очистку сточных вод за короткий промежуток времени.

#### Список использованной литературы:

1. Патент RU №2232806 С 12 N 1/20. Консорциум микроорганизмов *Bacillus brevis* и *Arthrobacter spp.*, используемый для очистки воды и почвы от нефти и нефтепродуктов / О.Н. Логинов, Силищев Н.Н. и др. Заявл. 12.08.2002; опубл. 20.07.04. Бюл. 20.
2. Патент RU №2241032 С 12 N 1/20. Способ очистки водных поверхностей от нефтяного загрязнения / О.Н. Логинов, Силищев Н.Н. и др. Заявл. 03.12.2002; опубл. 27.11.04. Бюл. 33.
3. Патент РФ №2308485, 2007. Штамм бактерий *Serratia species* – продуцент липазы / О.Н. Логинов, Н.Н. Силищев, Н.Ф. Галимзянова, Т.Ф. Бойко.
4. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
5. Скрабин Г.К., Кошеченко К.А. Иммобилизованные клетки микроорганизмов // Биотехнология. М.: Наука, 1984.
6. Сунцева Н.В. Использование иммобилизованной микрофлоры в очистке сточных вод // <http://www.labionica.ru/files/4.doc>.
7. Форстер К.Ф., Вейз Д.А. Экологическая биотехнология: Перев. с нем. – Л.: Химия, 1990. – 282 с.
8. Янкевич М. И. Формирование ремедиационных биоценозов для снижения антропогенной нагрузки на водные и почвенные экосистемы. Автореф. дисс. ... д.б.н. М., 2002. 50 с.