

На правах рукописи

КОБЫЗЕВА НАДЕЖДА ВАЛЕРЬЕВНА

**ЛОКАЛЬНАЯ ОЧИСТКА ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ
ВОД С ПОМОЩЬЮ БИОПРЕПАРАТА «ЛЕНОЙЛ»**

03.00.23 – биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Уфа – 2009

Работа выполнена в Институте биологии Уфимского научного центра РАН в рамках темы «Ферменты и метаболиты почвенных и ризосферных микроорганизмов» (номер государственной регистрации ГР № 01200210612)

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Логинов Олег Николаевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Киреева Наиля Ахняфовна
заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук, профессор
Еремец Владимир Иванович

Ведущая организация: **Институт Биохимии и Физиологии
Микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина
Российской Академии Наук**

Защита состоится «15»_мая__2009 г. в 14.00 часов на заседании Объединенного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций ДМ 002.136.01 при Институте биологии Уфимского научного центра РАН по адресу: 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 69, тел/факс: 8 (347) 235-62-47, e-mail: ib@anrb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Уфимского научного центра РАН и на официальном сайте АН РБ по адресу: <http://www.anrb.ru/inbio/dissovet>

Автореферат разослан «__»_____2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент



Р.В.Уразгильдин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Присутствие в сточных водах промышленных предприятий химических загрязнителей в высокой концентрации создает серьезные трудности при их очистке. Микроорганизмы активного ила биологических очистных сооружений, хорошо зарекомендовавшие себя при обезвреживании хозяйственно-бытовых стоков, сталкиваясь с загрязнителями – ксенобиотиками часто страдают от их токсического воздействия, не способны быстро и полно удалять их из очищаемой воды. Перспективным способом преодоления этой проблемы может быть предварительная детоксикация таких вод на установках локальной очистки непосредственно на предприятиях до сброса в городские коллекторы. Использование на установках локальной очистки специальных микроорганизмов-деструкторов, способных к расщеплению трудно разлагаемых органических загрязнителей до простых веществ, позволит добиться почти полной их минерализации без значительных энергозатрат. В случае многокомпонентного загрязнения вод необходимая глубина очистки может быть достигнута за счет комбинирования катаболических возможностей в сообществах микроорганизмов, поскольку их способность к биодegradации выше, чем у чистых культур (Илялетдинов, Алиева, 1990).

Однако применение описанного выше подхода с включением подобных установок в систему очистных сооружений различных предприятий требует разработки индивидуальных технологий и применения специально подобранных микробных культур для обработки промышленных стоков в зависимости от типа органического загрязнения. Одним из наиболее часто встречающихся типов является многокомпонентное загрязнение с преобладанием в его составе веществ углеводородной природы. Поэтому изучение процесса детоксикации и выбор способов очистки таких сточных вод является в настоящее время актуальной проблемой.

Цель исследований. Изучение возможности локальной очистки сточных вод от углеводов и их производных с помощью микроорганизмов-деструкторов.

Задачи исследований.

1. Изучение возможности утилизации жиров, углеводов и их производных, входящих в состав сточных вод микроорганизмами биопрепарата «Ленойл» и бактериями рода *Serratia*.

2. Исследование процесса иммобилизации микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и бактерий рода *Serratia* на различных носителях. Оценка жизнеспособности и деструктивной активности иммобилизованных клеток микроорганизмов.

3. Исследование процесса локальной очистки жиро- и углеводород содержащих сточных вод с использованием микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на адсорбенте.

Научная новизна. Впервые доказана способность консорциума микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и продуцента липолитических ферментов *Serratia species* ИБ 3-1 к утилизации загрязнителей углеводородной природы в составе промышленной сточной воды сложного химического состава.

Установлено увеличение глубины биологического разложения растворенных и эмульгированных в сточных водах органических загрязнителей биопрепаратом «Ленойл» и липолитическим штаммом *Serratia species* ИБ 3-1 после иммобилизации этих бактерий на твердых носителях.

Практическая значимость. Предложен способ локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклолит», позволяющий удалить из них значительную часть углеводов и других органических веществ. Данный способ после соответствующей доработки может быть рекомендован для очистки иных углеводородсодержащих промышленных сточных вод.

Найдена новая область практического применения биопрепарата «Ленойл» и продуцента липолитических ферментов *Serratia species* ИБ 3-1, связанная с их использованием в процессе очистки многокомпонентных промышленных сточных вод, загрязненных углеводородами и жирами.

Апробация работы. Основные результаты исследований были представлены на XIX и XXI Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной

химии» (Уфа, 2006, 2008), III Международной научно-технической конференции «Наука, образование, производство в решении экологических проблем» (Уфа, 2006), Международной научно-практической конференции «Нефтегазопереработка и нефтехимия – 2007» (Уфа, 2007), III Международной научно-практической конференции «Проблемы экологии Южного Урала» (Оренбург, 2007), II Санкт-Петербургском Международном Экологическом форуме «Окружающая среда и здоровье человека» (Санкт-Петербург, 2007), Международной научно-технической конференции «Китайско-Российское научно-техническое сотрудничество. Наука-образование-инновации» (Харбин, 2008).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в Перечень ВАК, рекомендованных для соискателей ученой степени кандидата биологических наук.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, экспериментальной части (4 главы), заключения, выводов, списка цитируемой литературы. Работа изложена на 131 странице, содержит 43 таблицы и 4 рисунка. Список использованной литературы включает 132 наименования, из них 107 на русском языке.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность за неоценимую помощь и поддержку при выполнении работы сотрудникам лаборатории биологически активных веществ Института биологии УНЦ РАН в.н.с., к.т.н. Силищеву Н.Н., с.н.с., к.б.н. Бакаевой М.Д., сотрудникам лаборатории прикладной микробиологии с.н.с., к.б.н. Галимзяновой Н.Ф., с.н.с., к.б.н. Бойко Т.Ф.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлись консорциум микроорганизмов-нефтедеструкторов биопрепарата «Ленойл» и бактерии *Serratia species* ИБ 3-1 – продуцент липолитических ферментов, запатентованные в Российской Федерации (Пат. РФ № 2232806, 2308485).

В экспериментах использовали сточную воду из отстойника-накопителя ОАО «Стеклонит». В качестве загрязняющих веществ сточная вода содержит парафин, стеарин, вазелин, трансформаторное масло, закрепитель ДЦУ (продукт взаимодействия дициандиамида с формалином), препарат ОС-20 (смесь полиэтиленгликолевых эфиров высших жирных спиртов), являющимися компонентами «замасливателя», используемого при производстве стеклянного волокна.

Биомассу консорциума микроорганизмов *Bacillus brevis* и *Arthrobacter species* ИБ ДТ 5 (основа биопрепарата «Ленойл») получали культивированием на жидкой питательной среде Раймонда (Практикум, 1976) следующего состава, г/л: Na_2CO_3 – 0,1; 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; NaH_2PO_4 – 1,5; K_2HPO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; NH_4NO_3 – 2,0; вода дистиллированная – до 1 л. В качестве единственного источника углерода использовалось дизельное топливо – 1 мас. %.

Биомассу бактерий *Serratia species* ИБ 3-1 получали культивированием на питательной среде следующего состава (Поскрякова с соавт., 2007), мас. %: соевая мука – 2,5; дрожжевой экстракт – 4,0; K_2HPO_4 – 0,5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,1.

Эксперименты по очистке модельных растворов, содержащих углеводороды, проводили на качалке УВМТ-12-250 в колбах Эрленмейера объемом 250 мл при температуре 28⁰С со скоростью вращения 180 об/мин. Модельные растворы представляли собой жидкую минеральную среду Раймонда с углеводородами в качестве источника энергии и инокулят в виде трехсуточной культуры микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» с титром клеток $2 \cdot 3 \cdot 10^8$ КОЕ/мл или суточной культуры бактерий *Serratia sp.* ИБ 3-1 с содержанием клеток $3 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Остаточное содержание углеводов

определяли весовым методом после экстракции хлористым метиленом. Численность углеводородокисляющих микроорганизмов в сточной воде или модельных растворах учитывали на среде Раймонда со стерильной смесью углеводов в качестве источника углерода (Сэги, 1983).

Иммобилизацию микроорганизмов на сорбентах проводили согласно методике (Синицын с соавт., 1994). В качестве сорбентов использовались: керамзит (ТУ 5712-016-206727181-2003 – «БашИНКОМ»), керамзит (ТУ 5712-024-11158098-2003 – МНПП «Фарт»), активированный уголь (ТУ 6-17-5795739-101-89 – ОАО «Сорбент»), пенополиуретан (ТУ 2254-001-42816520-99) и синтепон (ООО «Котовский завод нетканых материалов»).

Эксперименты по очистке сточных вод ОАО «Стеклонит» проводились на лабораторной модели аэротенка АК-210 с рабочим объемом, равным 8 л, при постоянной аэрации.

Статистическую обработку результатов проводили, используя *t*-критерий Стьюдента на 5% уровне значимости. Данные, полученные в опытах, были обработаны на персональном компьютере с помощью программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ УТИЛИЗАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ СТОЧНОЙ ВОДЫ ОАО «СТЕКЛОНИТ» МИКРООРГАНИЗМАМИ БИОПРЕПАРАТА «ЛЕНОЙЛ» И БАКТЕРИЯМИ РОДА *SERRATIA*

В модельных экспериментах изучена деструктивная активность микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia* sp. ИБ 3-1 по отношению к углеводородам в жидкой среде. Источником углеводов являлось дизельное топливо и минеральное масло, вносимое в количестве 1 мас.% в модельный раствор, содержащий минеральные соли питательной среды Раймонда и инокулят микроорганизмов. Результаты экспериментов

свидетельствовали о наличии способности к разложению углеводов у бактерий *Serratia* sp. ИБ 3-1. Так, степень биодеструкции углеводов дизельного топлива и минерального масла для биопрепарата «Ленойл» за время эксперимента 4 суток составляла 77,5 и 61,2 мас.%, соответственно; для бактерий *Serratia* sp. ИБ 3-1 аналогичные показатели составили 42,8 и 34,7 мас.%.

Микробиологический анализ показал, что в составе аборигенной микробиоты сточной воды ОАО «Стеклонит» представлены различные группы гетеротрофных бактерий, включая представителей рода *Pseudomonas*, олиготрофов и углеводородокисляющих микроорганизмов. Бациллы и микроскопические грибы в составе микробиоценозов изучаемой воды выявлены не были. Бактерии цикла азота были представлены группами нитрифицирующих и денитрифицирующих микроорганизмов.

Важной особенностью микробиоты сточной воды, обнаруженной в ходе эксперимента, следует считать низкую численность углеводородокисляющих микроорганизмов ($1,7 \cdot 10^3$ КОЕ/мл). Даже при создании благоприятных условий их количество оставалось незначительным. Очевидно, полученные данные свидетельствуют о том, что сточная вода ОАО «Стеклонит», содержащая ряд углеводородных загрязнителей (трансформаторное масло, парафин, вазелин и др.) не может быть очищена в достаточной степени только за счет жизнедеятельности аборигенной микробиоты. Поэтому перспектива применения биопрепарата «Ленойл» и бактерий рода *Serratia* в очистке данной сточной воды представляла значительный интерес.

В связи с этим исследована возможность утилизации органических загрязняющих веществ, входящих в состав сточной воды ОАО «Стеклонит», биопрепаратом «Ленойл» и бактериями *Serratia* sp. ИБ 3-1.

Результаты экспериментов на качалке УВМТ-12-250 по биодеградации органических загрязняющих веществ (исходное содержание – 6,77 мас.%) сточной воды ОАО «Стеклонит» с использованием биопрепарата «Ленойл» и бактерий рода *Serratia* приведены в табл. 1.

Степень биодegradации органических загрязняющих веществ (мас.%)
 сточной воды (СВ) ОАО «Стеклолит» микроорганизмами
 биопрепарата «Ленойл» и бактериями *Serratia* sp. ИБ 3-1

Вариант опыта	Продолжительность эксперимента, сут							
	1	3	5	7	9	11	13	15
СВ + «Ленойл»	41,8	48,3	73,8	76,1	77,2	80,9	82,8	83,1
СВ + <i>Serratia</i>	42,9	53,7	65,7	67,1	71,2	71,3	73,9	73,5
СВ (контроль)	3,8	7,2	11,8	11,8	20,1	23,3	29,4	37,2

Полученные результаты свидетельствуют, что внесение в сточную воду биопрепарата «Ленойл» привело к снижению концентрации загрязняющих веществ на 83,1 мас.% через 15 суток проведения эксперимента, деструктивная активность для бактерий *Serratia* species ИБ 3-1 составила 73,5 мас.% за такой же период времени. Под действием аборигенных микроорганизмов биодеструкция загрязняющих веществ составила только 37,2 мас.%.

Максимальная численность углеводородокисляющих микроорганизмов в варианте с внесением бактерий рода *Serratia* и биопрепарата «Ленойл» была зарегистрирована на 7 и 9 сутки проведения эксперимента и составила величину $94 \cdot 10^5$ и $12 \cdot 10^6$ КОЕ/мл, соответственно (рис. 1).

Результаты экспериментов свидетельствуют об интенсивном развитии углеводородокисляющих микроорганизмов, а также значительной степени биодegradации загрязняющих веществ, что показывает возможность биохимической очистки сточных вод ОАО «Стеклолит» микроорганизмами биопрепарата «Ленойл» и бактериями *Serratia* sp. ИБ 3-1.

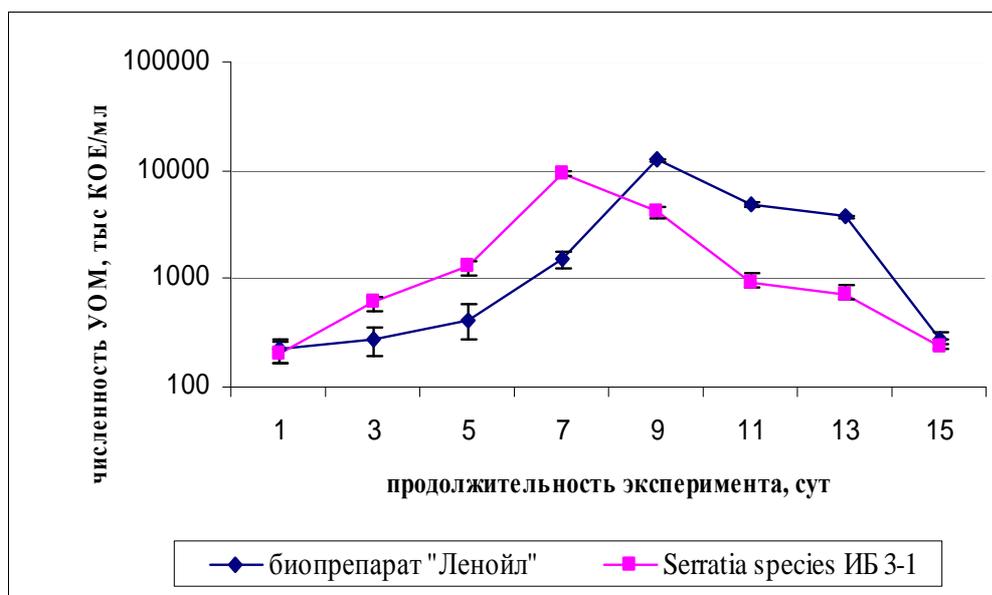


Рис. 1. – Численность углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) в сточной воде ОАО «Стеклолит» при внесении биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia* ИБ 3-1.

2. ИММОБИЛИЗАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ БИОПРЕПАРАТА «ЛЕНОЙЛ» И БАКТЕРИЙ РОДА *SERRATIA* НА РАЗЛИЧНЫХ АДСОРБЕНТАХ

В лабораторных экспериментах проведена иммобилизация микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia* sp. ИБ 3-1 на различных твердых адсорбентах (табл. 2).

Микроорганизмы биопрепарата «Ленойл» и бактерии рода *Serratia* способны к иммобилизации на всех использованных в экспериментах адсорбентах, но в различной степени.

Исследовано влияние адсорбирующих материалов на жизнеспособность и функциональную активность микроорганизмов-деструкторов. Необходимость проведения исследований для выяснения однородности и стабильности свойств штаммов микроорганизмов вызвана чувствительностью бактерий к различным способам хранения и поддержания их при лабораторном и промышленном культивировании (Синицын с соавт., 1994). Проведенные эксперименты показали, 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.

Таблица 2

Относительная масса микроорганизмов (мг/г) биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia species* ИБ 3-1, иммобилизованных на адсорбентах

Вид адсорбента	Микроорганизмы биопрепарата «Ленойл»	Бактерии <i>Serratia species</i> ИБ 3-1
Керамзит (ТУ 5712-016-206727181-2003)	26,16±0,89	9,51±0,17
Керамзит (ТУ 5712-024-11158098-2003)	23,61±1,1	-
Активированный уголь (ТУ 6-17-5795739-101-89)	9,58±0,27	24,82±0,84
Активированный уголь «CarboMax» фирмы AQUAEL (Brooklin, USA)	2,20±0,08	2,03±0,84
Комбинированный адсорбент «ZeoCarbon» фирмы AQUAEL (Brooklin, USA)	3,64±0,1	3,97±0,2
Пенополиуретан (поролон)	122,31±2,4	139,64±1,97
Синтепон	66,21±1,8	86,46±1,4

Для определения жизнеспособности иммобилизованных микроорганизмов был использован образец керамзита с адсорбированными на нем клетками бактерий, срок хранения которого (в сухой форме) при комнатной температуре составлял 14 суток. При интенсивном смыве клеток иммобилизованных микроорганизмов в питательную среду Раймонда получали инокулят, которым засеивали жидкие среды, где в качестве единственного источника углерода служили углеводороды дизельного топлива, минерального масла или сточных вод ОАО «Стеклонит» (табл. 3).

Как показали результаты исследований, иммобилизованные микроорганизмы биопрепарата «Ленойл» сохраняют свою жизнеспособность и способность к росту на различных углеводородах. Аналогичные результаты получены и при определении жизнеспособности бактерий *Serratia species* ИБ 3-1, иммобилизованных на керамзите.

Таблица 3

Жизнеспособность иммобилизованных клеток
микроорганизмов биопрепарата «Ленойл»

Вариант опыта	Численность микроорганизмов, КОЕ/мл				
	10 мин	1 сут	2 сут	3 сут	4 сут
ДТ	$(4 \pm 1,3) \cdot 10^6$	$(1,9 \pm 0,5) \cdot 10^7$	$(3,7 \pm 1,5) \cdot 10^7$	$(3,1 \pm 1,5) \cdot 10^7$	$(8,5 \pm 2,3) \cdot 10^6$
Минер. масло	$(3,3 \pm 0,8) \cdot 10^6$	$(9,0 \pm 1,9) \cdot 10^6$	$(1,3 \pm 0,4) \cdot 10^7$	$(2,8 \pm 0,9) \cdot 10^7$	$(6,3 \pm 2,4) \cdot 10^6$
СВ	$(3,8 \pm 1,2) \cdot 10^6$	$(9,7 \pm 2,4) \cdot 10^6$	$(6,4 \pm 2,0) \cdot 10^6$	$(4 \pm 1,1) \cdot 10^7$	$(1 \pm 0,32) \cdot 10^7$

3. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЛОКАЛЬНОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД ОАО «СТЕКЛОНИТ» НА ЛАБОРАТОРНОЙ МОДЕЛИ АЭРОТЕНКА С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ

В экспериментах использовалась лабораторная модель аэротенка АК-210, конструктивные особенности которой позволяли изменять степень турбулентности жидкости в аппарате и, соответственно, степень насыщения жидкости кислородом (рис. 2). Этот показатель, вследствие того, что микроорганизмы-деструкторы (и консорциум микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и бактерии *Serratia species* ИБ 3-1) являются аэробными микроорганизмами, является важным технологическим параметром процесса очистки сточных вод. Оптимальная величина

интенсивности аэрации, определенная экспериментально, составляла для лабораторной модели аэротенка $3,16 \text{ гО}_2/\text{л}\cdot\text{час}$.

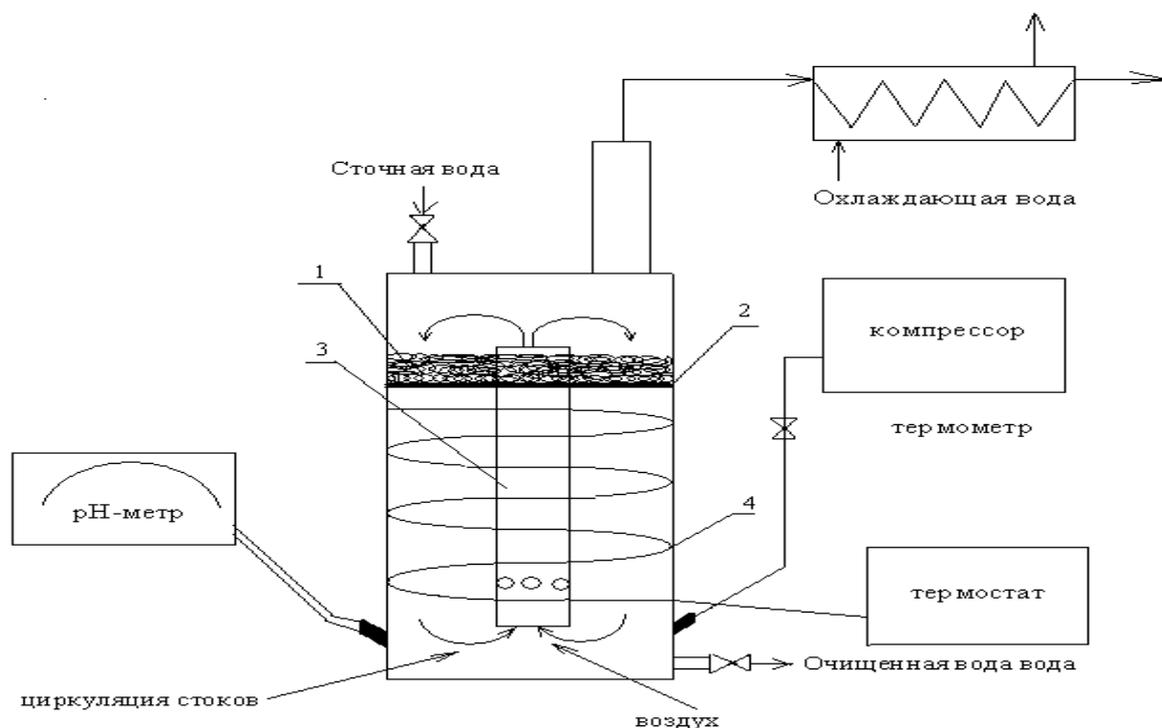


Рис. 2. Принципиальная схема лабораторной модели аэротенка для локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклолит»

1-слой сорбента с иммобилизованными микроорганизмами;

2-распределительная решетка с отверстиями; 3-трубка; 4-змеевик

Эксперименты по очистке сточной воды проводились с использованием иммобилизованных на носителе микроорганизмов. В очищаемую сточную воду добавляли минеральную основу питательной среды Раймонда для стимуляции роста микроорганизмов.

Определение численности углеводородоокисляющих микроорганизмов в сточной воде в процессе ее очистки с использованием иммобилизованных микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» (табл. 4) выявило положительную динамику этой величины. Численность микроорганизмов этой группы возрастала с 10^4 КОЕ/мл до 10^7 КОЕ/мл во всех вариантах эксперимента за время его проведения. Аналогичная тенденция отмечена и в экспериментах с использованием иммобилизованных бактерий *Serratia species* ИБ 3-1 (табл.5).

Показатели очистки сточной воды ОАО «Стеклолит» на лабораторной модели аэротенка с микроорганизмами биопрепарата «Ленойл», иммобилизованными на различных носителях

Время отбора проб, сут.	Численность микроорганизмов, КОЕ/мл	ХПК, мг/л	Содержание остаточных углеводов, мас.%	Степень биодеструкции, мас.%
керамзит				
Исходное значение	$(2,0 \pm 0,57) \cdot 10^4$	3571,1	$6,94 \pm 0,83$	-
2	$(1,7 \pm 0,47) \cdot 10^7$		$0,33 \pm 0,002$	94,4
3	$(2,4 \pm 0,61) \cdot 10^7$	1799,9	$0,27 \pm 0,015$	96,1
Активированный уголь				
Исходное значение	$(3,4 \pm 1,71) \cdot 10^4$	4012,6	$5,56 \pm 0,307$	-
2	$(1,8 \pm 0,81) \cdot 10^7$		$0,04 \pm 0,009$	99,3
3	$(3,2 \pm 0,97) \cdot 10^7$	841,5	$0,01 \pm 0,001$	99,8
синтепон				
Исходное значение	$(1,0 \pm 0,43) \cdot 10^4$	4881,6	$5,73 \pm 0,402$	-
2	$(1,3 \pm 0,38) \cdot 10^7$		$0,11 \pm 0,009$	98,1
3	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^7$	1870,6	$0,04 \pm 0,007$	99,3
поролон				
Исходное значение	$(1,1 \pm 0,44) \cdot 10^4$	4786,7	$6,03 \pm 0,404$	-
2	$(2,5 \pm 0,73) \cdot 10^7$		$0,08 \pm 0,006$	98,7
3	$(1,2 \pm 0,38) \cdot 10^7$	1990,8	$0,02 \pm 0,001$	99,7

Показатели очистки сточной воды ОАО «Стеклолит» на лабораторной модели аэротенка с бактериями *Serratia species* ИБ 3-1, иммобилизованными на различных носителях

Время отбора проб, сут.	Численность микроорганизмов, КОЕ/мл	ХПК, мг/л	Содержание остаточных углеводов, мас. %	Степень биодеструкции, мас. %
керамзит				
Исходное значение	$(1,8 \pm 0,72) \cdot 10^4$	4523,8	$6,48 \pm 0,0307$	-
2	$(4,8 \pm 2,1) \cdot 10^6$		$0,32 \pm 0,027$	95,1
3	$(6,3 \pm 1,9) \cdot 10^6$	2497,4	$0,30 \pm 0,013$	95,4
Активированный уголь				
Исходное значение	$(2,0 \pm 0,84) \cdot 10^4$	5502,6	$5,81 \pm 0,43$	-
2	$(2,9 \pm 0,91) \cdot 10^6$		$0,08 \pm 0,005$	98,6
3	$(5,0 \pm 1,61) \cdot 10^6$	1546,4	$0,06 \pm 0,007$	99,0
синтепон				
Исходное значение	$(1,7 \pm 0,65) \cdot 10^4$	4824,6	$5,51 \pm 0,31$	-
2	$(2,0 \pm 0,8) \cdot 10^6$		$0,10 \pm 0,0092$	98,2
3	$(1,7 \pm 0,42) \cdot 10^6$	1951,6	$0,04 \pm 0,0021$	99,3
поролон				
Исходное значение	$(2,3 \pm 0,71) \cdot 10^4$	4625,5	$5,97 \pm 0,41$	-
2	$(1,5 \pm 0,58) \cdot 10^6$		$0,11 \pm 0,0081$	98,1
3	$(3,8 \pm 1,34) \cdot 10^6$	2142,2	$0,10 \pm 0,007$	98,3

Численность углеводородокисляющих микроорганизмов возрастала во всех вариантах эксперимента с 10^4 КОЕ/мл до 10^6 КОЕ/мл.

Интенсивное развитие микроорганизмов-деструкторов углеводов в процессе ее очистки в аэротенке с иммобилизованными бактериями биопрепарата «Ленойл» позволило за сравнительно короткий промежуток времени добиться высокой степени удаления (96,1-99,8 мас.%) загрязняющих веществ. Показатель ХПК очищенной сточной воды по вариантам эксперимента снижался на 41,9 - 60,5% от исходной величины.

Эксперименты по очистке сточной воды в аэротенке с иммобилизованными бактериями *Serratia species* ИБ 3-1 также позволили за аналогичное время процесса снизить содержание органических загрязняющих веществ на 95,4-99,3 мас.%. При этом показатель ХПК очищенной сточной воды по вариантам эксперимента снижался на 39,8 - 51,2% от исходной величины этого показателя.

Сопоставляя результаты экспериментов по очистке сточной воды ОАО «Стеклонит» иммобилизованными микроорганизмами биопрепарата «Ленойл» (табл. 4) и бактериями *Serratia species* ИБ 3-1 (табл. 5) как по остаточному содержанию углеводов, так и по снижению значения показателя ХПК, следует отметить, что хотя процесс очистки и протекает несколько эффективнее с использованием биопрепарата «Ленойл», существенных отличий в результатах очистки не отмечено.

Результаты экспериментов свидетельствуют также о том, что природа сорбента для иммобилизации микроорганизмов-деструкторов не оказывает существенного влияния на результаты процесса очистки сточных вод. Цель локальной очистки – удаление основной части органических загрязняющих веществ достигалась при использовании всех изученных в экспериментах сорбентах: керамзите, активированном угле, поролоне и синтепоне.

При выборе сорбента для иммобилизации микроорганизмов-деструкторов при промышленной реализации процесса локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклонит» решающими показателями в пользу того или иного сорбента будут являться, видимо, его стоимость и способность к регенерации. Среди исследованных нами сорбентов поролон и синтепон на

основе синтетических волокон не способны к регенерации термическим способом, поэтому эти сорбенты могут рассматриваться как одноразовые с последующей их утилизацией (сжиганием). Стоимость активированного угля на сегодняшний день достаточно высока (около 40 тыс.руб/т), поэтому использование в качестве адсорбента сравнительно дешевого керамзита, отличающегося к тому же высокой механической прочностью и способностью к регенерации представляется наиболее целесообразным.

Целью следующих экспериментов являлось исследование возможности проведения непрерывного процесса локальной биохимической очистки сточных вод ОАО «Стеклонит» с использованием микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на керамзите и активированном угле.

Пробы сточной воды ОАО «Стеклонит», отобранные в различное время из отстойника-накопителя этого предприятия и содержащие органические загрязняющие вещества (от 5,04 до 9,3 %), подвергались очистке на лабораторном аэротенке при оптимальном режиме процесса. Период процесса очистки каждой пробы сточной воды (цикла) составлял 4 суток. По окончании процесса очищенная сточная вода сливалась из аэротенка, загружалась очередная проба исходной (загрязненной углеводородами) сточной воды и осуществлялся следующий цикл процесса очистки без замены сорбента с иммобилизованными микроорганизмами (табл. 6).

Результаты очистки сточной воды в первом цикле эксперимента вполне соответствуют результатам аналогичных исследований, представленным выше, степень очистки от органических загрязнителей за время эксперимента достигла, в частности, 94,4 мас.%. Однако результаты 2 и 3 цикла эксперимента свидетельствуют о некотором ухудшении показателей качества очищенной сточной воды: степень очистки от органических загрязнителей за 4 суток эксперимента составила во втором и третьем цикле процесса 77,4 мас.% и 59,3 мас.%, соответственно. Это обстоятельство подтверждается и сравнением показателей ХПК исходной и очищенной сточной воды для трех циклов проведения процесса очистки: снижение этого показателя

Показатели непрерывного процесса очистки сточной воды ОАО «Стеклонит» на лабораторном аэротенке с микроорганизмами биопрепарата «Ленойл», иммобилизованными на керамзите

Время отбора проб, сут.	Численность микроорганизмов, КОЕ/мл	ХПК, мг/л	Содержание остаточных углеводов, мас. %	Степень очистки, от органических загрязнителей, мас. %
1 цикл				
Исходное значение	$(1,2 \pm 0,43) \cdot 10^4$	3551,1	$5,04 \pm 0,405$	-
1	$(6 \pm 2,7) \cdot 10^6$	-	$0,93 \pm 0,071$	81,5
2	$(7,9 \pm 2,4) \cdot 10^6$	-	$0,82 \pm 0,026$	83,7
3	$(2,1 \pm 0,64) \cdot 10^7$	-	$0,61 \pm 0,03$	87,9
4	$(4,4 \pm 1,44) \cdot 10^7$	1992,5	$0,28 \pm 0,017$	94,4
2 цикл				
Исходное значение	$1,4 \pm 0,57) \cdot 10^5$	5319,8	$8,55 \pm 0,66$	-
1	$(7 \pm 2,7) \cdot 10^6$	-	$4,71 \pm 0,321$	44,9
2	$(1 \pm 0,4) \cdot 10^7$	-	$3,31 \pm 0,21$	61,3
3	$(5,3 \pm 1,62) \cdot 10^7$	-	$2,16 \pm 0,15$	74,7
4	$(1,2 \pm 0,27) \cdot 10^8$	3522,7	$1,93 \pm 0,17$	77,4
3 цикл				
Исходное значение	$(5,5 \pm 1,77) \cdot 10^5$	5871,7	$9,3 \pm 0,72$	-
1	$(1,3 \pm 0,48) \cdot 10^6$	-	$5,69 \pm 0,46$	38,8
2	$(7,2 \pm 2,18) \cdot 10^6$	-	$4,80 \pm 0,318$	48,4
3	$(6,6 \pm 2,0) \cdot 10^7$	-	$4,14 \pm 0,2$	55,5
4	$(2,8 \pm 0,91) \cdot 10^8$	4113,2	$3,79 \pm 0,33$	59,3

в результате очистки сточной воды для 1, 2, 3 цикла составило, соответственно 43,9; 33,8 и 29,9 мас. %.

Определение численности углеводородокисляющих микроорганизмов выявило положительную динамику этой величины. Численность микроорганизмов возрастала с 10^4 КОЕ/мл до 10^7 КОЕ/мл в первом цикле эксперимента и с 10^5 КОЕ/мл до 10^8 КОЕ/мл на последних 2-х циклах процесса. Таким образом, повторное использование микроорганизмов биопрепарата «Ленойл», иммобилизованных на сорбенте, не снижало скорости их размножения, и система очистки не теряла своего деструктивного потенциала. Более того, во втором цикле численность микроорганизмов стабилизировалась на более высоком уровне, чем в первом. Процесс циклической очистки сточных вод ОАО «Стеклонит» бактериями рода *Serratia*, иммобилизованными на активированном угле, проводился аналогично предыдущему эксперименту. Результаты эксперимента свидетельствовали о том, что степень очистки сточной воды от органических загрязнителей не являлась постоянной величиной и составляла по циклам процесса – 99,8 мас. % для первого цикла и 84,7 мас. % для второго цикла. Снижение показателя ХПК очищенной воды в результате проведения процесса составило при этом для первого и второго цикла, соответственно, 77,7 и 49,1 мас. %.

Численность углеводородокисляющих микроорганизмов в сточной воде в аэротенке возрастала с 10^4 КОЕ/мл до 10^7 КОЕ/мл в первом цикле эксперимента и с 10^5 КОЕ/мл до 10^7 КОЕ/мл во втором цикле процесса. То есть в этом эксперименте, как и в предыдущем, деструктивный потенциал системы, определяемый, в частности, численностью микроорганизмов-деструкторов в водной фазе, сохраняется при реализации следующего цикла эксперимента.

Таким образом, разработан способ локальной биохимической очистки сточных вод ОАО «Стеклонит», загрязненной углеводородами и их производными, с использованием микроорганизмов-деструкторов биопрепарата «Ленойл» или бактерий рода *Serratia*, иммобилизованных на различных сорбентах. В лабораторных условиях аэротенка степень очистки

сточной воды от органических загрязняющих веществ за 3-4 суток достигала в различных вариантах эксперимента 95-99 мас.%. Показано, что деструктивный потенциал системы очистки сохраняется на протяжении нескольких циклов процесса при сохранении высокой численности углеводородокисляющих микроорганизмов в очищаемой воде.

При разработке технологической схемы процесса локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклонит», очевидно, следует учитывать некоторое снижение эффективности очистки по каждому следующему циклу процесса. Это обстоятельство, на наш взгляд, может быть связано с повышением концентрации загрязняющих веществ на локальных участках поверхности адсорбента с иммобилизованными на ней микроорганизмами-деструкторами. Известно, что повышение концентрации загрязнителя (ксенобиотика) отрицательно сказывается на его деструкции микроорганизмами. Таким образом, для поддержания необходимого уровня эффективности процесса очистки в каждом его цикле требуется принятие определенных технологических решений, например, увеличение времени процесса очистки для конкретного цикла. Другим технологическим решением может являться регенерация адсорбента с последующей иммобилизацией на него микроорганизмов-деструкторов. Таким образом, при аппаратурном оформлении технологической схемы процесса локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклонит» следует предусмотреть несколько аэротенков, работающих в различных по времени режимах процесса очистки, а также системы регенерации отработанного сорбента и иммобилизации микроорганизмов-деструкторов на сорбенте.

4. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА УТИЛИЗАЦИИ ЖИРОВ ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ

В модельных экспериментах исследована возможность использования иммобилизованных форм биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia species* ИБ 3-1 для утилизации жиров. В качестве адсорбентов использованы керамзит, активированный уголь и молотый бетон.

Показано, что степень биодegradации подсолнечного масла, свиного и говяжьего жира под действием микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на твердых носителях, за 24-96 часов составляла 89-100 мас.%. Существенного влияния вида носителя иммобилизованных микроорганизмов на биодegradацию поллютанта не зафиксировано.

На лабораторном аэротенке в проточном режиме иммобилизованными на молотом бетоне микроорганизмами-деструкторами проведена очистка воды, в количестве 250 мг/л загрязненной смесью подсолнечного масла, свиного и говяжьего жира (1:1:1 по массе). Степень очистки от жиров через 8 часов эксперимента при различной скорости протока воды составила от 84,0 до 93,8 мас.% (рис.3). Способ утилизации жиров с помощью микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» успешно прошел промышленную апробацию на жиरोотстойнике канализационной системы одного из предприятий общественного питания.

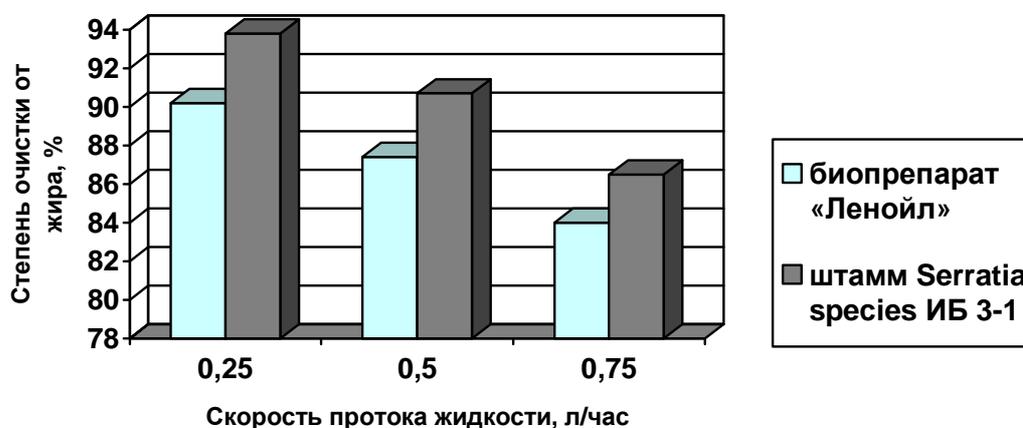


Рис. 3. Утилизация модельной жировой смеси на лабораторном аэротенке деструкторами, иммобилизованными на молотом бетоне

ВЫВОДЫ

1. Показана деструктивная активность биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia species* ИБ 3-1 в отношении основных органических загрязняющих веществ, присутствующих в сточных водах Уфимского ОАО «Стеклонит».

2. Установлена возможность иммобилизации микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia species* ИБ 3-1 с сохранением жизнеспособности, видового состава и биохимической активности на твердых адсорбентах: керамзит, активированный уголь, синтепон, поролон. Масса адсорбированных микроорганизмов для биопрепарата «Ленойл» составляет от 2,20 мг/г (на активированном угле) до 122,31 мг/г (на поролоне). Соответствующее значение для бактерий рода *Serratia* составило от 2,03 мг/г (на активированном угле) и до 139,64 мг/г на поролоне.

3. Показана возможность локальной биологической очистки сточных вод, загрязненной жирами, углеводородами и их производными, иммобилизованной на адсорбентах биомассой микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» и бактерий *Serratia species* ИБ 3-1.

4. Предложен новый способ локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклонит», включающий их ферментацию с использованием микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на адсорбентах. Степень деструкции органических загрязняющих веществ за 3 суток составляет 95-99 мас. %.

5. Разработан способ утилизации жиров в составе сточных вод, основанный на способности иммобилизованных микроорганизмов биопрепарата «Ленойл» или бактерий *Serratia species* ИБ 3-1 к деструкции животных и растительных жиров.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кобызева Н.В., Бойко Т.Ф., Логинов О.Н. Скрининг новых микроорганизмов-деструкторов для очистки сточных вод предприятий по производству стекловолокна //Материалы XIX Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии» (2-4.10.2006 г., Уфа). Уфа, «Реактив».-2006.-Т. 1.-С. 195-196.
2. Кобызева Н.В., Коршунова Т.Ю., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Локальная очистка производственных сточных вод с помощью биопрепарата «Ленойл» //Материалы III Международной научно-технической конференции «Наука, образование, производство в решении экологических проблем» (ноябрь 2006 г., Уфа). Уфа, УГАТУ.-2006.-Т. 2.-С. 104-107.
3. Кобызева Н.В., Коршунова Т.Ю., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Локальная очистка сточных вод, загрязненных нефтепродуктами, с помощью биопрепарата «Ленойл» //Материалы Международной научно-практической конференции «Нефтегазопереработка и нефтехимия – 2007» (22.05.2007 г., Уфа). Уфа, 2007.-С. 313-314.
4. Кобызева Н.В., Коршунова Т.Ю., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Использование биопрепарата «Ленойл» для локальной очистки производственных сточных вод, загрязненных углеводородами и их производными //Вестник Оренбургского государственного университета.-2007.-Вып. № 75.-С. 161-163.
5. Кобызева Н.В., Дубинина О.Н., Логинов О.Н., Четвериков С.П., Бойко Т.Ф., Черняева Н.Ю., Хуснарязанова Р.Ф., Силищев Н.Н. Биопрепарат-нефтедеструктор «Ленойл» //Токсикологический вестник.-2008.-№ 3.-С. 43-44.
6. Кобызева Н.В., Гатауллин А.Г., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Локальная очистка сточных вод предприятия ОАО «Стеклонит» //Материалы II Санкт-Петербургского Международного Экологического форума «Окружающая среда и здоровье человека» (1-4.07.2008 г., Санкт-Петербург). Санкт-

Петербург: Вестник Военно-медицинской Академии, 2008.-№ 3 (23).-Часть II.-С. 421.

7. Кобызева Н.В., Гатауллин А.Г., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Использование иммобилизованной микрофлоры для очистки сточных вод //Вода и экология: проблемы и решения.-2008.-№ 1.-С. 74-79.

8. Кобызева Н.В., Силищев Н.Н., Гатауллин А.Г., Логинов О.Н. Иммобилизация биопрепарата «Ленойл» на различных носителях //Тезисы докладов Международной научно-технической конференции «Китайско-Российское научно-техническое сотрудничество. Наука-образование-инновации» (15-23.06.2008 г., г.Харбин). КНР. Харбин-Санья, 2008.-С. 46.

9. Кобызева Н.В., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Возможность использования иммобилизованной формы биопрепарата «Ленойл» для локальной очистки сточных вод ОАО «Стеклонит» //Материалы XXI Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии» (14-16.10.2008 г., Уфа). Уфа, «Реактив».-2008.-Т. 1.-С. 135-136.

10. Кобызева Н.В., Гатауллин А.Г., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Разработка технологии очистки сточной воды с использованием иммобилизованной микрофлоры //Вестник Оренбургского государственного университета.-2009.- № 1.-С. 104-107.