

ПРИМЕНЕНИЕ ГЛИЦЕРИНА В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТА ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКОГО УДАЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ СТОЧНЫХ ВОД НЕФТЕХИМИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ

УДК 579.66

APPLICATION OF GLYCEROL AS SUBSTRATE FOR THE BIOCHEMICAL REMOVAL OF HEAVY METALS FROM WASTEWATER OF PETROCHEMICAL INDUSTRIES

Густомесов Р.Б., Клявлин М.С.,
Бобков О.В.

ФГБОУ ВПО «Уфимский
государственный нефтяной
технический университет», г. Уфа,
Российская Федерация

R.B. Gustomesov, M.S. Kljavlin,
O.V. Bobkov

FSBEI NPE «Ufa State Petroleum
Technological University»,
Ufa, the Russian Federation

Вопрос об удалении тяжелых металлов из сточных вод обостряется с каждым годом. Низкий уровень очистки сточных вод от тяжелых металлов ведет не только к их поступлению в природные воды, но также оказывает отрицательный эффект на процессы биологического окисления, аэробного и анаэробного сбраживания. Что в свою очередь усложняет борьбу с другими типами загрязнений. Ситуация усугубляется тем, что до сих пор не существует универсального, дешевого и, в равной степени эффективного способа удаления тяжелых металлов из сточных вод.

Одними из самых перспективных групп методов являются биохимические методы, в основе которых лежат процессы анаэробного разложения сульфатов. Эффективность получения бисульфида для удаления тяжелых металлов и сульфатов из промышленных сточных вод напрямую зависит от используемого органического субстрата, а также от степени эффективности возобновления источника углерода. В качестве субстрата для сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) легко доступным и простым в использовании является глицерин.

Тема данной работы затрагивает процессы анаэробного разложения глицерина в процессе ферментации. Также был определен оптимальный состав культуры СРБ и кинетическая модель процессов. Максимальное значение прироста биомассы СРБ при анаэробном разложении глицерина и температуре культивирования 27 °С составило $\mu_{\max} = 1,4$ день⁻¹. Установлено, что оптимальный диапазон начальной концентрации глицерина увеличивается при повышении температуры.

The question of the removal of heavy metals from wastewater escalates with each passing year. Low levels of wastewater treatment from heavy metals leads not only to their entry into natural waters, but also has a negative effect on the processes of biological oxidation, aerobic and anaerobic fermentation. This in turn complicates the struggle with other types of pollution. The situation is aggravated by the fact that until now there is no universal, cheaper and equally effective method for removing heavy metals from wastewater.

One of the most promising groups of methods are biochemical methods, which are based on the processes of anaerobic degradation of sulfates. The efficiency of the production of biosulfid for the elimination of heavy metals or sulphate from industrial wastewater is crucial on the used substrate and is directly related to the recoverability of the carbon source by microorganisms. Easily accessible and easy to use is glycerol as substrate for the sulfate-reducing bacteria (SRB).

Subject of the presented work was the investigation of the anaerobic degradation of glycerol in the batch fermentation. A mixed culture of SRB and a kinetic model approach was determined. The maximum value of biomass growth SRB anaerobic decomposition of glycerol and cultivation temperature of 27 °C was $\mu_{\max} = 1.4$ day⁻¹. Found that the optimum range of the initial concentration of glycerin increases with increasing temperature.

Ключевые слова: очистка сточных вод, глицерин, промышленные сточные воды, тяжелые металлы, сульфатредуцирующие бактерии, микроорганизмы.

Key words: wastewater treatment, glycerol, industrial sewage, heavy metals, sulphate-reducing bacteria, microorganisms.

В соответствии с «Водной директивой ЕС» тяжелые металлы перед сбросом сточных вод в канализацию должны быть устранены в самом источнике. Есть все основания полагать, что изменения водного законодательства в этом аспекте затронет и Россию. Ожидается, что обычные методы обработки будут не в состоянии справиться с дальнейшим ужесточением

требований для выведения тяжелых металлов. По этой причине новые методы приобретают все большее значение.

В данный момент самой распространенной методикой удаления тяжелых металлов из сточных вод является осаждение ионов тяжелых металлов за счет образования их гидроксидов и сульфидов. Сульфиды металлов имеют значительно более низкую растворимость, чем гидроксиды металлов. Таким образом, остаточная концентрация тяжелых металлов в сточных водах может быть значительно уменьшена за счет сульфидного осаждения. В противоположность этому существует целый ряд различных биохимических методов, в основе которых лежат анаэробные процессы разложения сульфатов. Эффективность

биохимических методов удаления тяжелых металлов из сточных вод определяется типом используемого органического субстрата.

До сих пор с переменным успехом были исследованы различные виды субстратов, такие как: масляная (бутановая) кислота, молочная кислота (лактат), метанол, этанол, пептон, глюкоза, водород, ацетат, компост и др. Некоторые органические субстраты, такие как метанол или ацетат одинаково хорошо преобразуются в ходе анаэробных процессов, что приводит к снижению концентрации сульфидов. С другой стороны, метанол и этанол экономически выгоднее.

Как альтернатива в качестве субстрата был исследован глицерин.

Существует ряд сульфатредуцирующих микроорганизмов, способных утилизировать глицерин и дающих прирост по биомассе в анаэробных условиях. Другие виды микроорганизмов, такие как *Desulfovibrio salexigens* и *Desulfovibrio carbinolicus* в противоположность этому не увеличивают своего объема.

Целью настоящей работы является изучение кинетики анаэробного разложения глицерина при периодической ферментации с помощью смешанной культуры сульфатредуцирующих бактерий (СРБ).

Материалы и методика исследования

СРБ (прекультуры) были получены из осадка анаэробных прудов и стоков с нефтеперерабатывающих предприятий г. Уфы, они были изолированы и обогащены.

Состав питательной среды включал в себя: KH_2PO_4 0,5 г/л, NH_4Cl 1,0 г/л, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 г/л, Na_2SO_4 3,2 г/л и глицерин 0,25–4,0 мл/л.

Для приготовления питательной среды использовался глицерин фармацевтической чистоты (99,5%).

Питательная среда была подготовлена из водопроводной воды без добавления микроэлементов.

Ряд экспериментов проводился в ферментаторах с объемом реактора от 300 до 1000 мл.

Во время процесса поддерживалась заданная температура. В качестве индикаторов хода процесса были использованы концентрация сероводорода, органическое содержание сухого вещества и разность химической потребности в кислороде (ХПК). Также раз в день измерялась концентрация сульфатов и значение pH среды. Изучение анаэробного роста биомассы сульфатредуцирующих бактерий с глицерином было проведено в ходе 9 параллельных испытаний I – IX (таблица 1). Испытания отличались друг от друга поддерживаемой температурой, коэффициентом разбавления и начальной концентрации H_2S .

Скорость роста и продолжительность экспоненциальной фазы роста

В таблице 1 представлены результаты испытаний анаэробного роста СРБ в присутствии глицерина в ходе девяти испытаний I - IX при различных условиях ферментации (температура, коэффициент разбавления и начальная концентрация H_2S). Таблица составлена на основе 40 образцов культивирования.

Было принято, что в экспоненциальной фазе роста концентрация H_2S является репрезентативной для роста клеток СРБ как метаболический продукт. Таким образом, темпы роста (таблица 1) определяются по измеренным значениям H_2S во время фазы экспоненциального роста. Численным отражением скорости прироста биомассы служил удельный коэффициент роста μ (коэффициент пропорциональности).

Подтверждение того, что изменение концентрации H_2S является достоверным показателем темпов

Таблица 1. Удельная скорость роста СРБ на глицериновом субстрате

Серия опытов	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Температура, °С	28	22	22	27	27	27	21	30	21
Коэффициент разбавления	1:5	1:17	1:20	1:9	1:9	1:9	1:9	1:9	1:1
Исходная концентрация H_2S , мг/л	25	12	24	58	28	51	34	30	174
Исходная концентрация глицерина, мл/л	μ , день ⁻¹								
0,15	—	—	—	0,06	—	0,055	0,07	0,36	—
0,25	—	0,05	—	0,21	—	—	—	—	—
0,50	—	0,06	—	0,30	—	—	0,20	—	—
0,75	0,63	—	—	—	—	—	—	—	—
1,00	0,60	0,07	—	0,43	0,19	0,15	0,25	0,70	0,1
1,50	0,64	—	—	—	—	—	—	—	—
2,00	0,68	0,006	—	0,40	—	—	0,07	0,74	—
2,50	0,12	—	—	—	—	—	—	—	—
3,00	0,11	—	—	0,16	0,16	0,09	0,07	—	—
4,00	—	—	—	0,09	0,05	0,09	—	0,25	—

прироста биомассы, были получены в ходе серии экспериментов VII при начальной концентрации глицерина (Cgl) 1,0 мл/л.

Скорость роста биомассы СРБ при $T = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ в данном случае на основе измеренных значений разности концентрации H_2S показали $\mu = 0,25$ (таблица 1). Темпы прироста, определенные в ходе этого же эксперимента прямым замером массы сухого органического вещества, составили $\mu = 0,24$. Таким образом, метаболическая система роста СРБ практически полностью отражает реальную картину. На рисунке 1 показаны кривые переменных состояния анаэробного разложения глицерина в ходе этого эксперимента.

В первые семь дней наблюдалось увеличение концентрации H_2S как метаболического продукта и одновременное увеличение концентрации сухого вещества в качестве индикатора клеточной массы, следовательно, можно сделать вывод, что экспоненциальный рост СРБ был завершен примерно за семь дней.

Этот период значительно короче при более высоких температурах. При $T = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ в ходе серии экспериментов – I, он длился всего три дня, как показано на рисунке 2. Но и в стационарной фазе от 3 до 7 дней продолжают происходить обменные процессы. Эти статичные фазы характеризуются динамическими процессами, такими как образование и распад клеточной массы, а также снижение концентрации H_2S .

Снижение концентрации биомассы, как можно видеть на рисунке 1, вероятно, произошло из-за лизиса. Снижение концентрации H_2S , как видно на рисунках 1 и 2, может быть связано с деятельностью серных бактерий, таких как хемоавтотрофные бактерии, для которых характерно использование восстановленных соединений серы в качестве субстрата.

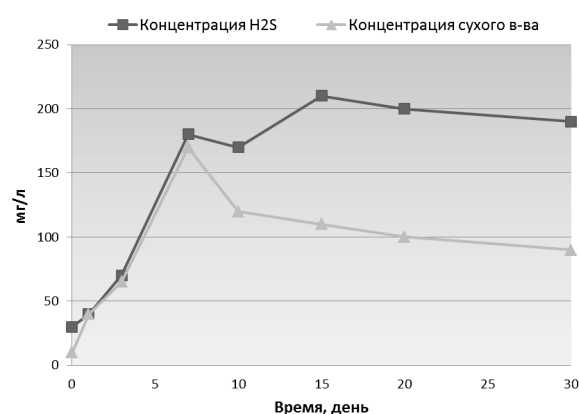


Рисунок 1. Кривые переменных состояния анаэробного разложения глицерина

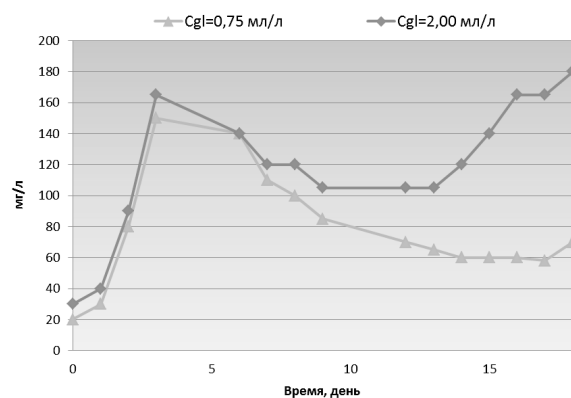


Рисунок 2. Кривые концентрации H_2S при $T = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ с различными начальными концентрациями глицерина

Ингибирование разложения субстрата продуктами метаболизма

В 7 тестовых образцах (I-VII) с различными начальными концентрациями глицерина был введен инокулят (рисунок 3).

Повышение начальной концентрации глицерина до 2,5 мл/л (образец V) резко снизило концентрацию H_2S до 34 мг/л после 3 дней культивирования. После 14 дней культивирования концентрация сероводорода возросла до 200 мг/л. Результаты показывают, что СРБ в образце V в течение первых трех дней показали очень низкие темпы роста. Рост биомассы СРБ в образцах VI и VII при высоких концентрациях глицерина (3 и 4 мл/л соответственно) не наблюдался на протяжении 2 месяцев культивирования. Это является следствием сильного ингибирования процессов прироста СРБ продуктами метаболизма.

На рисунке 4 представлены кривые изменения концентрации H_2S и показателя pH в процессе аэробного биоразложения глицерина с начальной концентрацией 2 мл/л. Видно, что произошло смещение значения pH из нейтральной (оптимальной) области, что приводит к резкому падению концентрации H_2S .

Через 4 дня начинается процесс обратного ингибирования за счет восстановления сульфатов, что приводит к росту показателя pH.

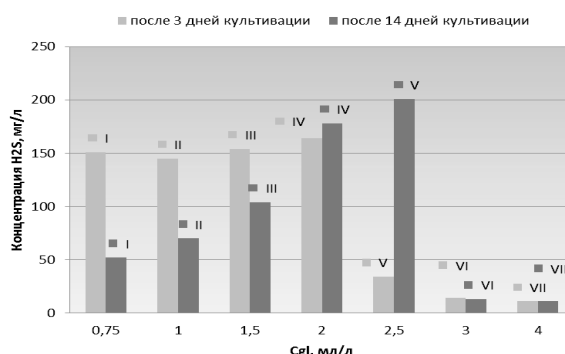


Рисунок 3. Концентрация H_2S в образцах I-VII в зависимости от начальной концентрации глицерина после 3 и 14 дней культивации

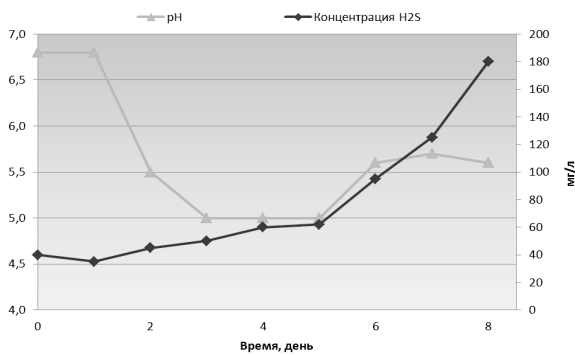


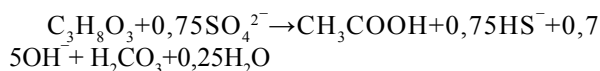
Рисунок 4. Кривые pH и концентрации H₂S при концентрации глицерина равной 2 мл/л

Кривые pH и концентрации H₂S (рисунок 4) косвенно показывают параллельный процесс брожения и восстановления сульфатов. Скорость восстановления сульфата возрастает с увеличением pH. Процессы в рассматриваемой биологической системе анаэробного разложения глицерина могут быть представлены ключевой реакцией:

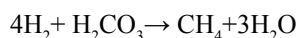
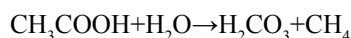
– Кислотообразование:



– Сульфатообразование:

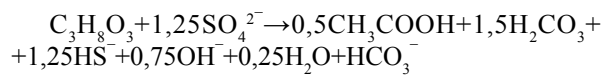


– Образование метана:



За каждую биохимическую реакцию отвечает специализированная группа бактерий. Таким образом, существует конкуренция между сульфатредуцирующими и метаногенными бактериями.

Если предположить, что метаногенные бактерии полностью подавляются сульфатредуцирующими бактериями, общая реакция без учета формирования биомассы будет выглядеть следующим образом:



Общая реакция показывает, что максимальный прирост H₂S (максимальный прирост биомассы) достигается при отношении C_{Gl}/C_{SO₄} в молярном соотношении 0,8. На рисунке 5 можно увидеть, что при температуре 27 °С и при молярном соотношении C_{Gl}/C_{SO₄} в начале эксперимента в интервале от 0,2 до 1,25 наблюдается повышенный рост СРБ. Понижение температуры до 20°С сокращает оптимальный диапазон молярных C_{Gl}/C_{SO₄} значений.

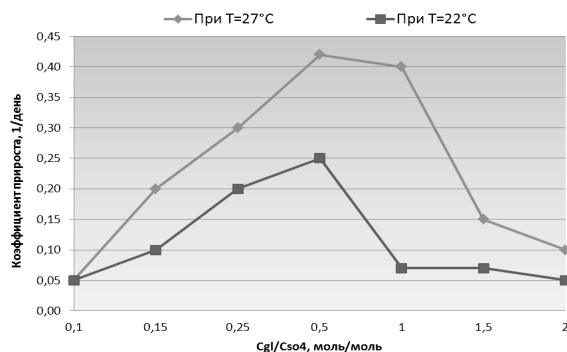


Рисунок 5. Коэффициент прироста биомассы СРБ в зависимости от C_{Gl}/C_{SO₄} при различных температурах культивирования

Выводы

Глицерин является благоприятным субстратом для роста сульфатредуцирующих бактерий. Теоретический коэффициент прироста сульфата равен 0,8 моль/моль. В эксперименте была достигнута цифра 0,71 моль/моль. Таким образом, глицерин уступает по эффективности субстратам из лактата, метанола и уксусной кислоты.

Максимальное значение прироста биомассы сульфатредуцирующих бактерий при анаэробном разложении глицерина и температуре культивирования 27 °С составило μ_{max} = 1,4 день⁻¹.

Оптимальный диапазон начальной концентрации глицерина увеличивается при повышении температуры. В эксперименте было показано, что при температуре 22 °С глицериновая подложка ингибировалась при концентрации от 2 мл/л, при 27 °С эффект ингибирования проявлялся при концентрации глицерина от 3 мл/л.

Максимальное удельное значение прироста сульфатредуцирующих микроорганизмов находится в диапазоне от 0,4 до 1,2 мольного отношения C_{Gl}/C_{SO₄}.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Зайнуллин Х.Н., Курганский М.И. Основы химической технологии. Уфа: изд-во УНИ, 1992. 160 с.

2 Биохимическая очистка сульфатсодержащих сточных вод / Губин В.Е. [и др.] // Химия и технология воды. Киев. 1984. №5. С. 465-469.

3 Эмиссия запахов из сточных вод / Густомесов Р.Б. [и др.] // Водоснабжение, водоотведение и системы защиты окружа-

ющей среды: материалы / III международ. науч.-техн. конф. Уфа: ЦИТО, 2012. С. 44-45.

4 Биохимическая очистка промышленных сточных вод от ионов тяжелых металлов / Динкель В.Г. [и др.] // Гальванотехника

и обработка поверхностей. 2004. №2. С. 57-61.

5 Смирнов Ю.Ю., Миронова О.В. Применение анаэробного процесса очистки сточных вод гальванических производств с использованием сульфатредуцирующих бактерий // Промышленная экология: тезисы докл. спец. конф. Уфа, 2002. С. 33-37.

6 Очистка производственных сточных вод: учеб. пособие для вузов /Яковлев С.В. [и др.] М., 1985. 335 с.

7 Postgate J.R. The sulphate-reducing bacteria. Cambridge: Univ. press, 1984. 208 p.

REFERENCES

1 Zajnullin H.N., Kurganskij M.I. Osnovy himicheskoj tehnologii. Ufa: izd-vo UNI, 1992. 160 s. [in Russian].

2 Biohimicheskaja ochistka sul'fatsozderzhashhih stochnyh vod / Gubin V.E. [i dr.] // Himija i tehnologija vody. Kiev, 1984. №5. S. 465-469. [in Russian].

3 Jemissija zapahov iz stochnyh vod / Gustomesov R.B. [i dr.] // Vodostabzhenie,

vodootvedenie i sistemy zashhity okruzhajushhej sredy: materialy /III mezhdunarod. nauch.-tehn. konf. Ufa: CITO, 2012. S. 44-45. [in Russian].

4 Biohimicheskaja ochistka promyshlennyh stochnyh vod ot ionov tjazhelyh metallov /Dinkel' V.G. [i dr.]. // Gal'vanotekhnika i obrabotka poverhnostej. 2004. №2. S. 57-61. [in Russian].

5 Smirnov Ju.Ju., Mironova O.V. Primenenie anajerobnogo processa ochistki stochnyh vod gal'vanicheskikh proizvodstv s ispol'zovaniem sul'fatreducirujushhih bakterij // Promyshlennaja jekologija: tezisy dokl. spec. konf. Ufa, 2002. S. 33-37. [in Russian].

6 Ochistka proizvodstvennyh stochnyh vod: ucheb. posobie dlja vuzov /Jakovlev S.V. [i dr.] М., 1985. 335 s. [in Russian].

7 Postgate J.R. The sulphate-reducing bacteria. Cambridge: Univ. press, 1984. 208 p. [in English].

Густомесов Р.Б., аспирант кафедры «Общая и аналитическая химия», ФГБОУ ВПО УГНТУ, г. Уфа, Российская Федерация

*R.B. Gustomesov, Post-graduate Student of the Chair «General and Analytical Chemistry», FSBEI HPE USPTU, Ufa, the Russian Federation
e-mail: first4083@yandex.ru*

Клявлин М.С., д-р хим. наук, заведующий кафедрой «Водоснабжение и водоотведение», ФГБОУ ВПО УГНТУ, г. Уфа, Российская Федерация

*M.S. Kljavlin, Doctor of Chemical Sciences, Head of the Chair «Water Supply and Sewerage», FSBEI HPE USPTU, Ufa, the Russian Federation
e-mail: mars_kljavlin@mail.ru*

Бобков О.В., канд. техн. наук, доцент кафедры «Водоснабжение и водоотведение» ФГБОУ ВПО УГНТУ, г. Уфа, Российская Федерация

*O.V. Bobkov, Candidate of Engineering Sciences, Associate Professor of the Chair «Water Supply and Sewerage», FSBEI HPE USPTU, Ufa, the Russian Federation
e-mail: bobkoleg@mail.ru*