



Анализ биологической очистки сточных вод и детоксикации активного ила очистных сооружений

А. В. Игнатенко

Белорусский государственный технологический университет, кафедра биотехнологии,
г. Минск, Республика Беларусь, e-mail: ignatenko_av@tut.by

Поступила в редакцию: 21.03.2022 г.; после доработки: 05.05.2022 г.; принята в печать: 16.05.2022 г.

Аннотация – Проведен анализ проблем аэробной биологической очистки сточных вод с использованием микроорганизмов активного ила. Отмечено, что при распространении биоочистки на промышленные сточные воды, обладающие непостоянным составом, большим спектром трудно разрушаемых ксенобиотиков, нефтепродуктов и тяжелых металлов, на активный ил стала возлагаться задача водоочистки как от биогенных элементов, так и трудно разлагаемых, токсичных веществ. Это привело к перегрузке активного ила и породило ряд проблем с очистными сооружениями, связанных с необходимостью доочистки сточных вод, регенерации активного ила, утилизации иловых осадков, загрязненных опасными веществами. Цель работы – анализ процессов удаления загрязнителей сточных вод и детоксикации иловых осадков. Дана общая характеристика механизмов очистки сточных вод микроорганизмами активного ила. Выделена важная роль процессов физической и химической адсорбции загрязнителей, а также процессов их внеклеточной, примембранной, внутриклеточной ферментации и транспорта веществ через клеточные оболочки. Рассмотрены процессы изъятия отдельных тяжелых металлов из сточных вод и определены скорости их удаления, а также изучено влияние ионов цинка на удельную ростовую активность бактерий. Отмечено наличие стадий активации, ингибирования и токсичного действия тяжелого металла в зависимости от его дозы. Проведен сравнительный анализ эффективности удаления тяжелых металлов из активного ила методом биотестирования токсичности водных вытяжек осадков при промывке водой, обработке солью кальция, ЭДТА. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования кальциевой и хелатной технологий удаления тяжелых металлов для детоксикации активного ила и быстрого контроля степени его очистки методом биотестирования.

Ключевые слова: биологическая очистка, сточные воды, биотестирование, индекс токсичности, активный ил, биосорбция, тяжелые металлы.

Analysis of waste waters toxicity and detoxication during their biological treatment

Arkadiy V. Ignatenko

Abstract – The analysis of the problems of aerobic biological wastewater treatment using activated sludge microorganisms has been carried out. It is noted that with the spread of bio-purification to industrial wastewater with an unstable composition, a large range of hard-to-destroy xenobiotics, petroleum products and heavy metals, the task of water purification from both biogenic elements and hard-to-decompose, toxic substances began to be assigned to activated sludge. This led to its overload and gave rise to a number of problems of treatment facilities associated with the need for additional wastewater treatment, regeneration of activated sludge, disposal of sludge contaminated with hazardous substances. The purpose of the work is to analyze the processes of wastewater pollutants removal and sludge sediment detoxification. A general description of the mechanisms of wastewater treatment by microorganisms of activated sludge is given. The important role of the processes of physical and chemical adsorption of pollutants, as well as the processes of their extracellular, primembrane, intracellular fermentation and transport of substances through cell membranes is highlighted. The processes of removal of individual heavy metals from wastewater are considered and the rates of their removal are determined, as well as the influence of zinc ions on the specific growth activity of bacteria is studied. The presence of activation, inhibition and toxic effects of heavy metal depending on its dose was noted. A comparative analysis of the efficiency of removing heavy metals from activated sludge by biotesting the toxicity of aqueous extracts of sediments during washing with water, treatment with calcium salt, EDTA was carried out. The data obtained indicate the possibility of using calcium and chelate technologies for the removal of heavy metals for detoxification of activated sludge and rapid control of the degree of its purification by biotesting.

Keywords: biological treatment, waste waters, toxicity index, biotesting, active sludge, biosorption, heavy metals.

ВВЕДЕНИЕ

В 2022 г исполняется 100 лет с момента принятия решения о строительстве биологических очистных сооружений в РФ для сбора и очистки городских сточных вод. В его основе лежала потребность в обеспечении санитарно-гигиенических условий чистоты городской среды и ликвидации вспышек инфекционных заболеваний, связанных с антисанитарией, а также появление более дешевых и безопасных способов очистки сточных вод, чем транспортировка, сброс в естественные водоемы, биопруды и др. [1, 2].

Процессы очистки сточных вод с использованием активного ила были предложены в Англии в начале 1900-ых гг., изучены в США в 1912 – 1914 гг. Н.В. Clarke (Lawrence Experimental Station, Massachusetts) и позже обобщены в РФ [3, 4]. Они были более эффективны, чем биопруды, поля орошения и фильтрации, т.к. требовали меньших площадей и позволяли перерабатывать большие объемы сточных вод в густонаселенных районах.

Биологическая очистка изначально предназначалась для удаления легко окисляемых органических веществ коммунально-бытовых сточных вод и хорошо справлялась со своей задачей. Работа первых очистных сооружений, появившихся в РФ в 1929 – 1933 гг., снизила детскую смертность и заболеваемость населения [2].

В связи с бурным развитием промышленности в РФ в послевоенные годы остро встал вопрос об очистке промышленных сточных вод. Строительство отдельной канализационной сети для сбора и очистки сточных вод промышленных предприятий посчитали нецелесообразным и дорогим мероприятием. Были предложены идеи локальной очистки сточных вод на предприятиях, а также разведения их сточных вод коммунально-бытовыми водами, аэробной и анаэробной биологической обработкой смешанных вод и осадков на городских очистных сооружениях с получением биогаза в метантенках. Однако опасность взрыва метана на очистных сооружениях, а также широкое использование природного газа, нефтепродуктов, электроэнергии затормозили развитие биогазовых технологий.

В 1960–1980-ых гг. классические методы и сооружения аэробной биологической очистки сточных вод активным илом были распространены по всем крупным городам страны.

Аэробная очистка сточных вод, как комплекс мероприятий по удалению загрязнений, содержащихся в бытовых и промышленных сточных водах перед выпуском их в водоёмы, включала 3 основных этапа: механический, биологический, физико-химический [5].

1. Механический этап – предназначен для предварительной очистки сточных вод от грубых и тонкодисперсных примесей: мусора, песка, органических и неорганических взвешенных частиц, способных к седиментации в течение 2 ч, для подготовки сточных вод к биологической очистке. На этом этапе биохимическое потребление кислорода (БПК) сточных вод снижается примерно на 10–20%.

2. Биологический этап – основная стадия очистки сточных вод от растворенных органических и неорганических соединений, снижающая БПК сточных вод на 80–90%. Это наиболее дешевый и универсальный способ очистки сточных вод, близкий к естественным процессам самоочистки воды в природе.

При распространении биологической очистки на промышленные сточные воды, обладающие переменным составом, большим спектром тяжелых металлов, трудно разрушаемых ксенобиотиков, нефтепродуктов, на активный ил негласно стала возлагаться задача очистки сточных вод и от биогенных элементов, и от трудно разлагаемых и токсичных веществ.

Вместе с недостаточной очисткой сточных вод на локальных очистных сооружениях, залповыми выбросами загрязнителей предприятиями в городские сточные воды это приводило к перегрузке активного ила, его гибели, снижению качества очистки сточных вод от биогенных элементов. Все это потребовало введения стадии регенерации активного ила и разработки дополнительных технологических процессов доочистки сточных вод [1, 5, 7].

3. Физико-химический этап. С 1980–1990-ых гг. проводится модернизация очистных сооружений на основе совместного использования биологических и физико-химических методов. Данный этап применяется для доочистки сточных вод от растворённых примесей трудно разрушаемых органических веществ, тяжелых металлов, удаления биогенных элементов азота,

фосфора, для чего используются процессы сорбции, флотации, коагуляции и др. Одним из эффективных сочетаний является применение адсорбционной и биологической очистки сточных вод.

На физико-химическом этапе предусматривается также обеззараживание сточных вод химическими реагентами или путем безреагентной ультрафиолетовой обработки, мембранной фильтрации и др.

Аэробная очистка сточных вод наряду с достоинствами обладает рядом недостатков: более высокими эксплуатационными расходами из-за необходимости перемешивания и аэрации; сложностью поддержания оптимального процесса очистки; образованием большого количества загрязненной опасными веществами биомассы, требующей ее депонирования в специальных местах на длительное время для естественной детоксикации.

С середины 1990-ых гг. введен запрет на бесконтрольное применение сточных вод для орошения, регламентированы требования к химической и биологической безопасности сточных вод и их осадков [8], введены ограничения на их использование в сельском хозяйстве, в лесопитомниках, садоводческих хозяйствах, для ремедиации почв [9, 10].

С 2000-ых гг. в связи с повышением стоимости энергоресурсов и органоминеральных удобрений повышается интерес к анаэробным процессам переработки осадков сточных вод с получением биогаза и удобрений, а также к сочетанию аэробной и анаэробной обработки сточных вод для более глубокой их очистки от биогенных элементов [11–14].

За рубежом в среднем до 40% осадков после переработки используется в сельском хозяйстве в качестве удобрений (рис. 1).

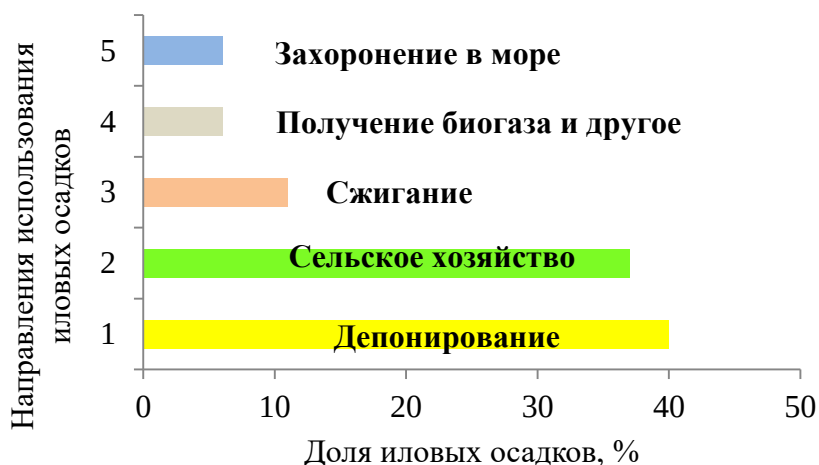


Рис. 1. Использование активного ила в странах Западной Европы

Fig. 1. Usage of active sludge wastes in countries of Western Europe

Быстрый рост населения Земли, численность которого увеличилась в 3 раза по сравнению с началом XX века, и необходимость его жизнеобеспечения привели к росту потребления пресной воды на сельскохозяйственное использование в 7 раз, коммунальное — в 8 раз, промышленное — в 22 раза [15]. При таком росте водопотребления резко стало не хватать водных ресурсов, что потребовало

увеличить степень водоочистки и возврат воды в технологические процессы для обеспечения замкнутого цикла производства [15, 16].

Анализ проблем водоочистки сточных вод в РФ показывает, что в настоящее время только 54,8% очистных сооружений имеют биологическую очистку [17]. Остальные сооружения используют механическую и физико-химическую обработку, не обеспечивающие достаточно глубокой очистки сточных вод и удаляющие лишь дисперсные частицы. Только совместное сочетание механической, физико-химической и биологической очистки повышает глубину очистки сточных вод.

Наблюдается изменение химического состава сточных вод. Отмечается избыток нитратов, фосфатов, моюще-дезинфицирующих веществ, СПАВ, содержащих полифосфаты до 40% их массы.

Сложный химический состав смешанных сточных вод, содержащих легко окисляемые биогенные вещества, трудно биологически окисляемые вещества (нефтепродукты, антибиотики, дезинфицирующие вещества и др.), неразлагающиеся синтетические органические соединения (ксенобиотики), и высокотоксичные вещества (тяжелые металлы, полиароматические углеводороды и их галогенпроизводные и др.), а также недостаточная адаптация к ним микроорганизмов породили ряд проблем очистных сооружений, связанных с перегрузкой активного ила балластными и токсичными веществами, не используемыми в метаболизме клеток.

Только половина очистных сооружений с биологической обработкой справляются с антропогенной нагрузкой и удалением основных биогенных элементов С, N, P, тогда как другая часть не обеспечивает требуемого качества очистки сточных вод. Наиболее эффективно из биогенных элементов удаляется С в аэробных условиях и менее эффективно N и P, что вызывает эвтрофикацию водоемов, куда сбрасываются очищаемые воды. Это потребовало разработки различных способов доочистки сточных вод от биогенных элементов N и P за счет комбинирования аэробных, анаэробных и аноксидных процессов, а также использования реагентной обработки [12, 14].

Активный ил является хорошим биосорбентом и способен накапливать в больших количествах многие загрязняющие вещества, при этом часть из них – субстраты, он биохимически разрушает (самоочищает свою поверхность) и использует для получения энергии и наращивания своей биомассы. Не разрушаемые загрязнители и токсичные вещества, накапливаясь на поверхности активного ила, дезактивируют его и снижают качество очистки сточных вод, создают проблемы с удалением биогенных элементов.

О содержании балластных и токсичных веществ в сточных водах судят по соотношению БПК/ХПК. При его соотношении равном 0,5 и выше проводится традиционная биологическая очистка сточных вод в аэротенках. Достаточность элементов питания для бактерий в биоочистных сооружениях определяется отношением основных биогенных элементов $C : N : P = 100 : 5 : 1$. Значение БПК_п/ХПК ниже 0,5 свидетельствует о присутствии в водах значительного количества биологически неразлагаемых примесей и указывают на необходимость совмещения биологической и физико-химической очистки,

прежде всего адсорбции. Практика показала, что данная технология позволяет повысить устойчивость активного ила к залповым выбросам тяжелых металлов и колебаниям химического состава сточных вод [6].

Деактивация активного ила, вызываемая балластными веществами, ингибиторами и токсичными соединениями, требует его периодической регенерации (реактивации). Регенерацию активного ила предусматривают при БПК_п поступающих стоков более 150 мг/л; при наличии в стоках вредных производственных примесей.

Были предложены два основных варианта регенерации активного ила: оксигенация вне аэротенка и регенерация ила в аэротенке [1, 5, 7]. Большее распространение получил второй способ, позволяющий экономить площади очистных сооружений и снижающий затраты на очистку. Недостатком данного способа является циркуляция балластных и токсичных веществ внутри аэротенка.

Остаются, по-прежнему, недостаточно изученными процессы хемо- и биосорбции, а также механизмы самоочистки, регенерации и детоксикации активного ила.

Цель работы – анализ процессов удаления загрязнителей сточных вод и детоксикации иловых осадков.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы

Объект исследования – образцы активного ила Минской очистной станции МОС-1 с влажностью 99%, отобранные из иловой камеры. Влажность активного ила определяли методом высушивания образцов до постоянной массы и взвешивания. В качестве солей тяжелых металлов служили сульфат железа, сульфат меди, сульфат цинка, бихромат калия (хч) «Белреахим»), в виде водных растворов солей в диапазоне концентраций 10^{-3} – 10^{-5} М. Для проведения исследований использовали также кислоты серную, ортофосфорную, ч; 1,5-дифенилкарбазид, диэтилдитиокарбамат натрия (ООО «Chemline», РФ), растворы аммиака, хлорида аммония, сульфосалициловой кислоты, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ч, «Белреахим»).

Изучение емкости связывания тяжелых металлов проводили в статических условиях при комнатной температуре, используя уравнение Ленгмюра [14], определяя текущую (a) и максимальную (a_{max}) удельную емкость связывания тяжелых металлов.

$$a = (C - C_p) \cdot V/m \quad (1)$$

где C , C_p – текущая и равновесная концентрации тяжелых металлов в растворе, V – объем раствора, m – масса биосорбента.

Относительную величину сорбционной емкости связывания тяжелых металлов (Θ) выражали в процентах от максимальной емкости связывания активного ила (a_{max}) как

$$\Theta = a / a_{\text{max}} \cdot 100(\%). \quad (2)$$

Обработка активного ила ЭДТА или солью Ca^{2+} . Определение $a_{\max}$ проводили после обработки активного ила этилендиамин N,N,N,N-тетрауксусной кислоты динатриевой солью (ЭДТА), х.ч. (10^{-3} – 10^{-4} М). Для удаления сорбированных на его поверхности тяжелых металлов использовали также малорастворимую соль $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Для этого к 1 г илового осадка добавляли 10 мл раствора ЭДТА или суспензии $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 10^{-3} М, выдерживали в течение 30 мин. После этого надосадочную жидкость удаляли центрифугированием и дважды промывали осадок при разведении водой 1/10 при 6000 об/мин, 5 мин. Полученный иловый осадок использовали для дальнейшего анализа связывания тяжелых металлов, а надосадочную жидкость для биотестирования ее токсичности.

Определение удельной скорости роста микроорганизмов. Объектом исследования служили суточные культуры клеток санитарно-показательных микроорганизмов *E. coli* из коллекции кафедры биотехнологии БГТУ, выращенные на среде ММ9 с глюкозой. Тепловыделение клеток регистрировали на микрокалориметре МКМ-Ц (Казахстан), как описано в [18].

Удельную скорость роста микроорганизмов определяли по формуле:

$$\mu = \ln (q_2 / q_1), \quad (3)$$

где q_1, q_2 – значения мощности тепловыделения клеток на стадии экспоненциального роста в моменты времени t_1, t_2 .

Определение индекса ингибирования и токсичности водных вытяжек активного ила. Обработанные и необработанные осадки активного ила осаждали центрифугированием при 6000 об/мин, 10 мин. После этого к 1 г осадка добавляли 1 – 10 – 100 мл дистиллированной воды, выдерживали в течение 1 ч. Надосадочную жидкость профильтровывали через мембранный фильтр и использовали для определения ингибирующих и токсичных веществ методом биотестирования подвижности клеток *Euglena gracilis*, как описано в [19].

Индекс подвижности клеток (ИП, %) определяли по формуле

$$\text{ИП} = (v_k - v_i) / v_k \cdot 100\%. \quad (4)$$

где v_k, v_i – средние скорости движения клеток в контрольной и анализируемой пробах, соответственно.

При определении обратимого или необратимого характера действия веществ исходные пробы разбавляли дистиллированной водой в соотношениях 1/10, 1/100 и анализировали подвижность клеток, как описано выше. Усреднение показаний двигательной активности клеток проводили по $n = 3$ измерениям.

Кинетика связывания солей тяжелых металлов микроорганизмами активного ила. После обработки активного ила ЭДТА к 100 мл 10% илового осадка добавляли соли тяжелых металлов ($C_0 = 10^{-4}$ М) и выдерживали в течение 1 ч. Отбирали пробы каждые 10 мин, фильтровали надосадочную жидкость через мембранный фильтр с диаметром пор 0,2 мкм и определяли содержание в них тяжелых металлов методом спектрофотометрии. При определении $\text{Fe}^{(\text{общ})}$ использовали его реакцию с сульфосалициловой кислотой с образованием комплексного соединения с максимумом на длине волны 400 нм. За содержанием

ионов Cu^{2+} следили по реакции с диэтилдитиокарбаматом натрия на длине волны 430 нм. Cr^{6+} определяли по реакции с дифенилкарбазидом при 540 нм [19].

В работе применяли следующее оборудование: спектрофотометр Specord M-40 (Analytik Jena AG, Германия), центрифугу Hettich модель EBA-2 (Hettich, Германия), аналитические весы Sartorius CPA225D (Sartorius AG, Германия), аквадистиллятор ДЭ-10М (ЭМО, РФ), одноканальные дозаторы Thermo Scientific Finnpiquette F1 фиксированного объема 10 – 1000 мкл и наконечниками (Thermo Fisher Scientific, Финляндия), фильтрационное устройство SWINNEX-47 MILLIPORE и мембранные фильтры капроновые микропористые «ХИЙУ КАЛУР» (Эстония) с диаметром микропор 0,2 мкм. Значения pH растворов измеряли на pH-метре pH 211 (Hanna Instruments, Германия).

Полученные данные обрабатывали статически, используя программное обеспечение Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Общая характеристика механизмов удаления загрязнителей сточных вод микроорганизмами активного ила

Среди микроорганизмов активного ила основную функцию по удалению загрязнителей из сточных вод выполняют бактерии, в виду того, что это наиболее многочисленная (10^{12} кл/г) и многообразная (несколько сотен видов) группа микроорганизмов, отличающаяся широкой, но не безграничной всеядностью и способностью преобразовывать вещества неорганической и органической природы, имеющая высокую удельную поверхность обмена (до $1200 \text{ м}^2/\text{г}$), максимальную среди других микроорганизмов скорость метаболизма и ростовую активность ($t_{\text{удв}}$ до 20 мин).

Бактерии, как и мицелиальные грибы, растительные организмы не имеют системы осмотической регуляции и для обеспечения своей устойчивости используют жесткие клеточные стенки. В случае Гр (+) бактерий они образованы толстым слоем пептидогликана – муреина поверх бактоплазматической мембраны, а в случае Гр (–) бактерий – тонким слоем муреина в периплазматическом пространстве между двумя бактоплазматическими мембранами.

Бактерии, являясь прокариотами, не имеют внутренней системы пищеварения, включающей систему вакуолей с пищеварительными ферментами, как у эукариот. У бактерий сформировался голофитный способ питания, который предусматривает перенос низкомолекулярных веществ через поверхность внутрь клеток. В случае присутствия высокомолекулярных соединений (белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот и др.), бактериальные клетки могут их утилизировать путем выброса в окружающую среду гидролитических ферментов, расщепляющих сорбированные биополимеры до мономеров, а затем их транспорта внутрь клеток для завершающей деструкции. За сутки одна бактериальная клетка может переработать питательных веществ в 30–40 раз больше своей массы.

Удаление загрязнителей микроорганизмами активного ила при аэробной очистке сточных вод является сложным, многоэтапным процессом, включающим следующие стадии [11]:

- 1) адсорбция субстратов на клеточной поверхности;
- 2) расщепление адсорбированных субстратов внеклеточными ферментами;
- 3) поглощение растворенных веществ клетками;
- 4) рост, эндогенное дыхание и размножение клеток;
- 5) выделение продуктов метаболизма;
- 6) «выедание» первичной популяции микроорганизмов (редуцентов) вторичными потребителями (консументами 1-го порядка) для омолаживания ила и поддержания его активности.

В идеале протекание всех стадий очистки должно приводить к полной минерализации загрязнителей сточных вод до солей, газов и воды. В реальности на процессы удаления веществ из сточных вод оказывают влияние различные факторы, включающие: внешнюю и внутреннюю диффузию, сорбцию, десорбцию, необратимое связывание веществ, выделение внеклеточных ферментов, активность ферментативных систем, осуществляющих превращения и транспорт веществ, наличие токсичных и балластных веществ, снижающих жизнеспособность и активность клеток активного ила и др.

Растворенные питательные вещества поступают в бактерии через свободную поверхность клеток, преодолевая ряд барьеров: у Гр (+) бактерий – микрокапсулу, клеточную стенку и бактоплазматическую мембрану, у Гр (–) бактерий – 2 бактоплазматические мембраны, клеточную стенку и периплазматическое пространство. Для капсулообразующих микроорганизмов перенос веществ осуществляется через слизистый слой и три клеточные оболочки: капсулу, клеточную стенку и бактоплазматическую мембрану.

Упрощенная схема процесса изъятия и превращения загрязнителей клетками активного ила для бактерий приведена на рисунке 2.

Слизь, капсулы и клеточные стенки способны свободно пропускать через свою молекулярную сеть низкомолекулярные вещества до 1000 Да и задерживают более крупные молекулы.

Механизмы транспорта веществ через мембраны клеток. Из 3-х основных оболочек бактерий наиболее полно изучены механизмы транспорта веществ через мембраны клеток, как основной барьер, лимитирующий скорость попадания веществ в клетки.

Они включают процессы, протекающие без затрат энергии по градиенту концентраций: диффузию через липидный бислой, движение через поры, облегченную диффузию с подвижными и фиксированными белками-переносчиками (транслоказами); процессы активного транспорта против градиента концентраций, с затратами энергии и белками-переносчиками – пермеазами, сходными с ферментами и обладающими субстратной специфичностью. Детально также исследованы процессы внутриклеточной ферментации субстратов [20]. Менее изученными остаются процессы переноса веществ через капсулы и клеточные стенки, примембранного пищеварения, открытые акад. Уголевым А. М. [21, 22], а также процессы внутримембранной ферментации [23, 24].

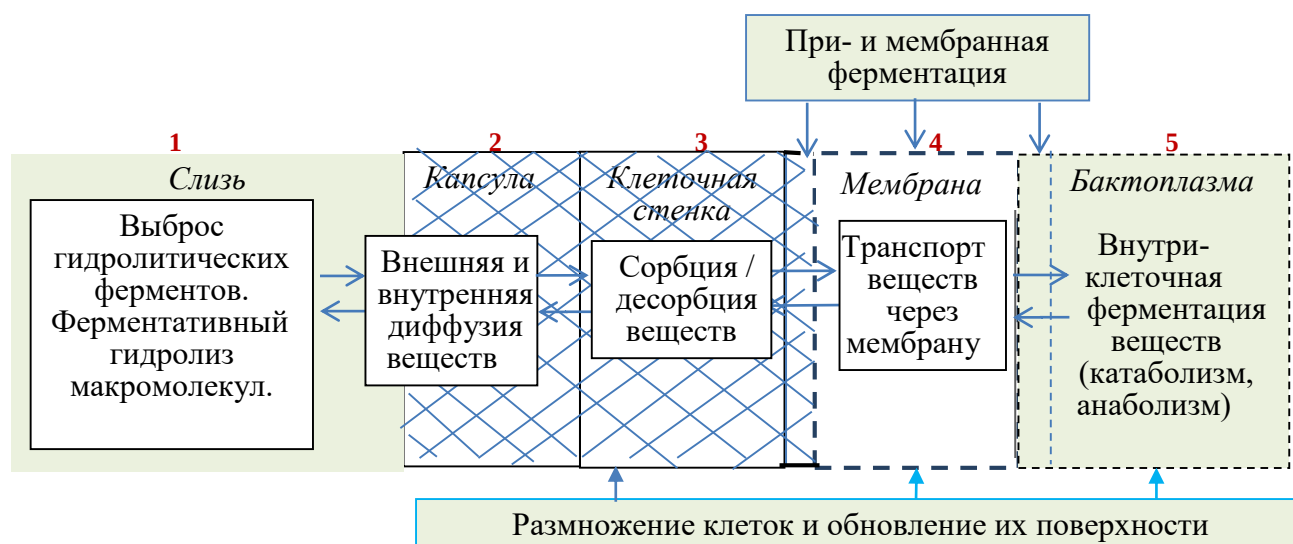


Рис. 2. Упрощенная схема удаления загрязнителей из сточных вод бактериями:

1 – внешняя среда, слизь; 2 – микро-, макрокапсула (50–200 нм), 3 – клеточная стенка (20–80 нм), 4 – бактоплазматическая мембрана (5–10 нм), 5 – бактоплазма клеток (500–3000 нм)

Fig. 2. Simplified scheme for the removal of pollutants from wastewater by Gr⁺ bacteria: 1 – external environment, mucus; 2 – micro-, macro-capsule (50–200 nm), 3 – cell wall (20–80 nm), 4 – bactoplasmic membrane (5–10 nm), 5 - cell bactoplasm (500 – 3000 nm)

В основе начальных стадий удаления загрязнителей сточных вод бактериями лежат процессы диффузии и сорбции веществ на поверхности клеток, которые зависят как от природы молекул, их молекулярной массы, концентрации, так и количества мест, энергии связывания с поверхностью биосорбента. Основным регулятором сорбционно / десорбционных процессов служит соотношение свободной площади поверхности к объему клеток.

Диффузия является одним из основных процессов переноса веществ, при этом она осложняется сложной структурой биообъектов и наличием микро- и макропор с размерами от 10^{-9} до 10^{-5} м, протеканием внешней и внутренней диффузии, отличающихся величинами коэффициентов диффузии: твердотельная – менее 10^{-9} м²/с, поверхностная – менее 10^{-7} м²/с, свободная – 10^{-4} – 10^{-5} м²/с) [25].

Многие биологически важные низкомолекулярные вещества, такие, как аминокислоты, сахара переносятся не путем молекулярной диффузии, а путем облегченной диффузии с участием белков переносчиков, что ускоряет процессы их транспорта по сравнению с обычной диффузией [26].

Пассивная и облегченная диффузия обеспечивают только транспорт веществ по градиенту концентраций, но не накопление их в клетках. Для этого используется активный транспорт.

Для биосорбентов характерно сложное сочетание процессов диффузии, адсорбции, десорбции, хемосорбции, транспорта веществ внутрь клеток, ферментации. Сочетания данных процессов мало изучены, поэтому при описании удаления загрязнителей из сточных вод они, как правило, совместно не рассматриваются. Более того, обходятся стороной вопросы о выделении внеклеточных ферментов и их прохождении через поры клеточной стенки,

способные пропускать низкомолекулярные вещества (до 1000 Да), тогда как молекулярная масса внеклеточных ферментов на 1 – 2 порядка выше.

Адсорбционные процессы на поверхности клеток. Наиболее быстрой начальной стадией удаления веществ из сточных вод является их адсорбция на поверхности клеток. Различают два механизма адсорбции веществ, отличающиеся энергией связывания молекул с поверхностью – физическая адсорбция (0 – 40 кДж/моль) и химическая адсорбция (40 – 400 кДж/моль). Физическая адсорбция не требует энергии активации и поэтому протекает очень быстро [27]. Физическая сорбция и десорбция являются обратимыми процессами, что обеспечивает перенос веществ по всей поверхности и в глубину сорбента до мест хемосорбции.

При хемосорбции процессы связывания необратимы, требуется энергия активации и десорбция практически не наблюдается. Высвобождение хемосорбированных молекул возможно в результате протекания химических реакций, разрывающих отдельные связи молекул с поверхностью.

В случае биосорбентов, захватывающих субстраты из окружающей среды преимущественно хемосорбцией, главным образом за счет образования фермент-субстратных комплексов, самоочистка поверхности клеток от субстратов осуществляется путем их внеклеточной и примембранной ферментативной деструкции, модификации и транспорта продуктов внутрь клеток белками переносчиками для их дальнейшего метаболизма.

Считается, что взаимодействие активного ила с загрязнителями сточных вод протекает в 2 стадии, различающиеся скоростями процессов [16]. На первой быстрой стадии изъятия веществ из сточных вод, осуществляемой обычно во второй секции аэротенка, происходит адсорбция мелкодисперсных и растворимых примесей органических и неорганических веществ сточных вод на поверхности микроорганизмов активного ила.

На второй, более медленной стадии, осуществляется ферментативная деструкция и транспорт низкомолекулярных веществ внутрь клеток, где они вступают в ферментативные реакции катаболизма и анаболизма, приводящие к наращиванию биомассы активного ила.

В данном представлении не учитывается, что вместе с легко и трудно окисляемыми субстратами на поверхности активного ила сорбируются не метаболизируемые ксенобиотики и тяжелые металлы, которые не расщепляются из-за отсутствия необходимых ферментов, трудно окисляются из-за нехватки кислорода или в виду ингибирования ферментов. По мере насыщения поверхности клеток балластными и токсичными веществами уменьшается количество активных центров связывания субстратов и нарушаются процессы их транспорта и утилизации клетками. Процессы очистки поверхности клеток от балластных и токсичных веществ, а также саморегенерации активного ила в литературе не рассматриваются.

Ферментативные процессы и стадии доставки веществ или ферментов к месту их действия. Для биосорбентов при удалении загрязнителей сточных вод важную роль играют ферментативные процессы и стадии доставки веществ или ферментов к месту их действия.

Все ферменты бактериальных клеток по времени функционирования делятся на конституционные и адаптивные (индуцибельные). Первые синтезируются и непрерывно работают для поддержания жизнедеятельности клеток. Синтез индуцибельных ферментов осуществляется только при появлении субстратов во внешней среде. По сложности организации ферменты делятся на простые, моносубъединичные, и сложные, содержащие несколько субъединиц и кофакторы. По месту проявления своей ферментативной активности бактериальные ферменты подразделяются на внутриклеточные, примембранные, внутримембранные и внеклеточные [20, 28–31]. Последние должны преодолеть все защитные оболочки клеток для попадания во внешнюю среду и разрушения макромолекул до мономеров, способных проникать через поры клеточной стенки к мембране и внутрь клеток.

Роль внеклеточных ферментов. Важную роль среди внеклеточных ферментов играют гидролазы. Гидролитические ферменты синтезируются внутри клеток и находятся в неактивной форме в процессе переноса через клеточные оболочки для исключения их биоповреждения.

Поскольку свободная вода является универсальным субстратом, принимающим участие в реакциях гидролиза биополимеров с помощью гидролитических ферментов и находится в окружающей среде в избытке (55 М), то равновесие реакции смещено в сторону распада биополимеров до мономерных соединений, из которых они образованы.

Внутри клеток, где вода связана с коллоидными структурами, гидролазы могут в специальных условиях осуществляться и обратные реакции синтеза биополимеров.

У бактерий, имеющих наружный тип пищеварения, гидролитические внеклеточные ферменты являются простыми, индуцибельными, с низкой молекулярной массой, различающейся в зависимости от типа гидролизуемых реакций: липолитические 7–14 кДа, протеолитические 18–28 кДа, сахаролитические 50–70 кДа, что облегчает им проникновение через бактериальные оболочки наружу [29, 30].

Гр (+) бактерии выделяют множество гидролаз сразу в окружающую среду. У Гр (–) микроорганизмов они накапливаются в периплазматическом пространстве клеток между двумя бактоплазматическими мембранами.

Затем они активируются за счет различных механизмов: при взаимодействии с ионами металлов; при ограниченном протеолизе и отщеплении пептидов из предшественников; путем химической модификации (фосфорилирование, дефосфорилирование) или путем аллостерической регуляции [30].

Системы переноса макромолекул во внешнюю среду. В процессе эволюции у бактерий сформировалось 7 основных систем переноса макромолекул во внешнюю среду, различающихся по структуре и функциям [32].

1) Система секреции I типа (рис. 3, а) – транспортирует белки через внутреннюю, наружную бактоплазматические мембраны и клеточную стенку в один этап путем образования в них одного общего канала.

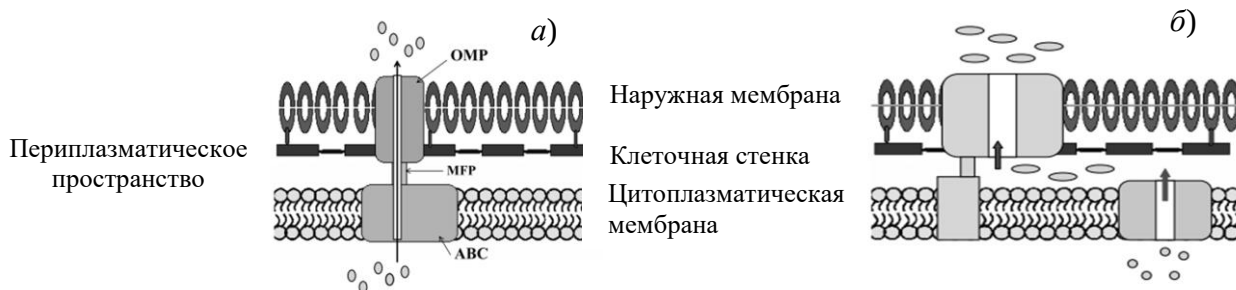


Рис. 3. Системы секреции Гр (–) бактерий I (а) и II (б) типов [32].

Fig. 3. Systems of Gram (–) bacterial secretion I (a), II (b) types [32].

Она включает 3 компонента: АТФ-связывающую касету (ABC), белки соединяющие мембраны (MFP) и белки наружной мембраны (OMP). Этим путем секретируются токсины, металлопротеазы и ряд гидролитических ферментов.

2) Система секреции II типа (рис. 3, б) – обеспечивает секрецию основных гидролитических ферментов, белков, участвующих в формировании поверхностных структур клетки. Ее рассматривают в качестве общего секреторного пути Гр (–) бактерий, осуществляемого путем транспорта ферментов через внутреннюю и внешнюю мембрану при участии *sec*-белков, изменяющих конформацию переносимого белка.

3) Системы секреции III типа у Гр (–) бактерий в основном связана с переносом компонентов жгутиков, белков-эффекторов. Она представляет собой инъектизму, состоящую из нескольких интегрально встроенных белков, способных впрыскивать эффекторные белки наружу или в клетки эукариот, вызывая реорганизацию их цитоскелета и проникновения патогенных бактерий в ткани и клетки и развития патогенеза.

4) Система секреции IV типа – в которой белки проходят через оболочки клеток отдельными этапами при участии *sec*-белков. Используется для введения эффекторных белков патогенными бактериями.

5) Система секреции V типа – отличается формированием в протоплазматическом пространстве цилиндрической поры через которую наружу выбрасываются адгезины и другие белки патогенов. Ее рассматривают как систему автотранспортеров белков высокой молекулярной массы, состоящей не менее, чем из 3000 аминокислотных остатков.

6) Система секреции VI типа также встречается у патогенов и обеспечивает доставку секретируемых белков в цитоплазму клеток. Она представляет собой полую структуру, состоящую из наслаиваемого набора колец, проходящую через клеточные оболочки до паразитируемой клетки, способную прокалывать ее и осуществлять прямую инъекцию эффекторных белковых молекул.

7) Система секреции VII типа – встречается у микобактерий, она содержит две поры в верхней и нижней частях клеточных оболочек.

Примембранное пищеварение. Для деструкции веществ бактерии используют не только внешнее, но и примембранное пищеварение [19, 20]. Оно участвует в обеспечении выброса внеклеточных ферментов, а также в транспорте веществ внутрь клеток.

Для обеспечения работы системы внешнего пищеварения, а также процессов роста и размножения бактериальных клеток в них предусмотрено временное ферментативное разрушение клеточной стенки и изменение ее проницаемости за счет ферментов примембранной системы пищеварения. Под действием внутреннего осмотического давления размеры пор клеточных стенок увеличиваются, что способствует выходу внутриклеточных гидролитических ферментов из клеток.

Благодаря работе других ферментов примембранной системы пищеварения, сшивающих разрушенные связи, клеточные стенки вновь восстанавливаются. Система примембранного пищеварения также обеспечивает деструкцию промежуточных веществ до низкомолекулярных соединений и создание градиента их концентраций для пассивного и облегченного транспорта веществ с помощью транслоказ и активного их переноса с помощью пермеаз.

Совместная работа этих двух ферментативных систем обеспечивает выделение наружу крупных молекул гидролитических ферментов, токсинов, компонентов, из которых собираются наружные элементы бактерий – жгутики, ворсинки и др., а также сопровождает рост и размножение бактерий.

На рис. 4 приведена обобщенная схема удаления загрязнителей сточных вод микроорганизмами активного ила, включающая взаимосвязь процессов диффузии, сорбции/десорбции, хемосорбции, ферментации и транспорта веществ через мембрану клеток, их катаболизма и анаболизма.

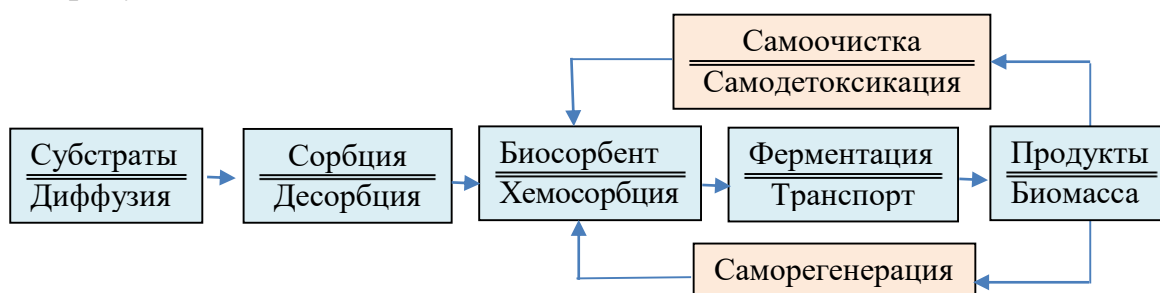


Рис. 4. Общая схема удаления загрязнителей сточных вод активным илом

Fig. 4. Total scheme of wastes removal from waste water by active sludge

Особенностью биосорбентов является протекание процессов хемосорбции субстратов на примембранных ферментах с образованием фермент-субстратных комплексов с последующей ферментативной модификацией веществ и их транспортом внутрь клеток и использованием для получения энергии и роста биомассы.

Для клеток активного ила характерно также протекание процессов самоочистки, самодетоксикации и саморегенерации. Данные процессы характеризуют разные стадии его внутренней способности самовосстанавливать свою активность и предусматривают различные механизмы данного процесса, связанные с действием продуктивного обмена, размножением клеток или взаимодействием микроорганизмов на трофическом уровне. Различие данных процессов может быть также связано с природой веществ и характером их действия на микроорганизмы: активирующим, ингибирующим или токсичным.

Таким образом, живые микроорганизмы, как биосорбенты, проявляют физиологическую активность в процессах связывания, переноса веществ через свою поверхность и способны адаптироваться к окружающей среде и целенаправленно изменять свою проницаемость в зависимости от состава питательной среды и условий питания, способны к самоочистке, самодетоксикации и саморегенерации, что отсутствует у неживых сорбентов.

II. Сорбционно-кинетический подход для характеристики изъятия загрязнителей биосорбентами

Одновременный учет всех свойств биосорбентов – сложная задача, поэтому ее упрощают и в первом приближении рассматривают биосорбент, как адсорбент. Одним из основных процессов переноса веществ между адсорбентом и средой является диффузия.

В соответствии с законом Фика массоперенос веществ определяется выражением [33]:

$$dm/dt = D \cdot S \cdot dC/dx \quad (5)$$

где dm/dt – скорость переноса массы вещества; D – его коэффициент диффузии, S – площадь поверхности переноса; dC/dx – градиент концентрации вещества.

Поскольку величины D , S , dC/dx , как правило, неизвестны, выражение (5) преобразуют к виду

$$dm/dt = D/l \cdot S/V \cdot m = P \cdot m, \quad (6)$$

где m – масса вещества, l – толщина слоя переноса, D/l – линейная скорость переноса вещества через границу фаз, S/V – отношение площади поверхности к объему сорбента, определяющее удельную поверхность переноса.

Показатель $P = D/l \cdot S/V$ характеризует проницаемость веществ при их переносе через границу раздела фаз. Он зависит от постоянной величины (D/l) , определяющей свойства вещества и толщину слоя диффузии, а также от показателя удельной поверхности раздела фаз S/V .

При небольших концентрациях переносимых веществ и времени диффузии показатель $P = \text{const}$, т.к. $S = S_0 = \text{const}$, $V = \text{const}$. В условиях постоянства P , проницаемость вещества через границу раздела фаз определяется выражением

$$P = \ln (m/m_0)/t, \quad (7)$$

где m , m_0 – текущая и начальная масса переносимого вещества. Поскольку они связаны с концентрацией веществ, как $m = \Delta C \cdot V$ выражение (7) приводится к виду

$$\Delta C = \Delta C_0 \cdot \exp (- P \cdot t) = \Delta C_0 \cdot \exp (- t/\tau) \quad (8)$$

где $\tau = 1/P$ – константа, обратная показателю проницаемости, ΔC , ΔC_0 – текущая и максимальная разности концентраций между фазами.

Из полученного выражения следует, что процесс выравнивания концентраций за счет диффузии веществ описывается экспоненциальной зависимостью и зависит от коэффициента проницаемости и разности концентраций веществ на границе переноса. В условиях, когда диффузия веществ

сопровождается адсорбцией и лимитирующей стадией всего процесса является адсорбция вещества C на поверхности сорбента Π , взаимодействие вещества с сорбентом можно представить схемой:



где k_1 и k_{-1} – константы скорости сорбции и десорбции вещества, $K_c = k_{-1} / k_1$ – константа равновесия.

Процесс адсорбции характеризуется удельной величиной – a ,

$$a = (C - C_p) \cdot V/m, \quad (10)$$

где C , C_p – текущая и равновесная концентрации сорбированного вещества, V – объем раствора, m – масса сорбента.

Для характеристики степени заполнения поверхности используется относительная величина – Θ , определяемая, как

$$\Theta = a/a_{\max} \quad (11)$$

где a , $a_{\max}$ – текущая и максимальная адсорбция веществ.

В рамках мономолекулярной модели физической сорбции веществ на свободной поверхности сорбента, описываемой уравнением Ленгмюра, при приближении к равновесию скорость заполнения поверхности веществом пропорциональна разности скоростей его сорбции и десорбции:

$$d\Theta/dt = k_1 \cdot C_o \cdot (1 - \Theta) - k_{-1} \cdot \Theta = k_1 \cdot C_o - (k_1 \cdot C_o + k_{-1}) \cdot \Theta \quad (12)$$

После разделения переменных и интегрирования получаем:

$$\Theta = k_1 \cdot C_o / (k_{-1} + k_1 \cdot C_o) \cdot (1 - \exp(-(k_{-1} + k_1 \cdot C_o) \cdot t)). \quad (13)$$

Если учесть, что $\Theta_{\max} = k_1 \cdot C_o / (k_{-1} + k_1 \cdot C_o)$, и обозначить $1/\tau = k_{-1} + k_1 \cdot C_o$, это выражение примет вид

$$\Theta = \Theta_{\max} \cdot (1 - \exp(-t/\tau)). \quad (14)$$

Данное уравнение характеризует кинетику заполнения поверхности сорбента веществом до максимального равновесного значения.

Кинетический анализ адсорбции веществ позволяет определить время завершения адсорбционного взаимодействия и константы скоростей элементарных стадий процессов сорбции и десорбции веществ.

На рис. 5 приведена кинетика сорбции отдельных ионов тяжелых металлов микроорганизмами активного ила.

Как видно из рис. 5, зависимость $\ln(1 - \Theta/\Theta_{\max})$ от t носит линейный характер, что позволяет по тангенсу угла наклона определить величины τ для связывания отдельных тяжелых металлов микроорганизмами активного ила.

Из изученных тяжелых металлов максимальная скорость связывания наблюдается для ионов железа, минимальная – для ионов хрома.

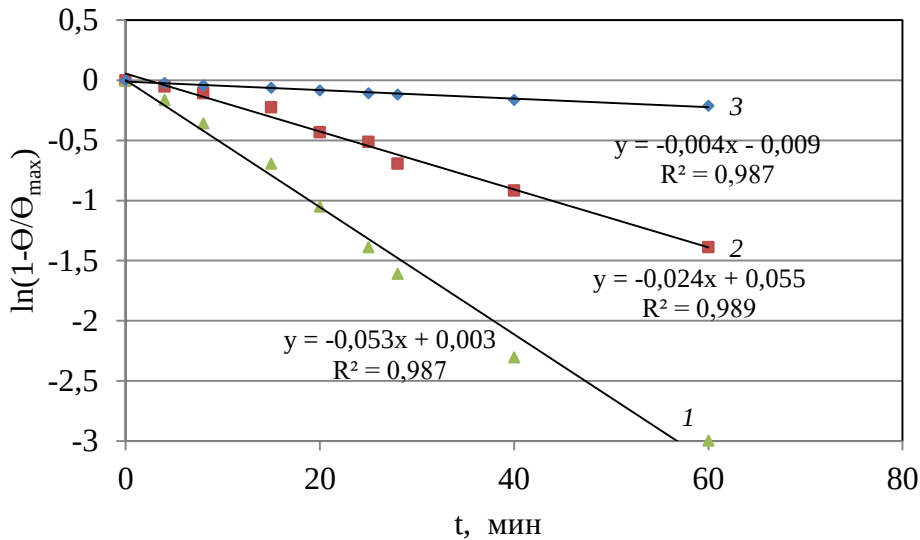
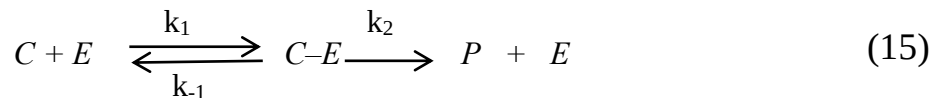


Рис. 5. Кинетика сорбции ионов тяжелых металлов микроорганизмами активного ила при 20°C:
1 – Fe³⁺, 2 – Cu²⁺, 3 – Cr⁶⁺

Fig. 5. Kinetics of sorption of heavy metal ions by microorganisms of activated sludge at 20°C:
1 – Fe³⁺, 2 – Cu²⁺, 3 – Cr⁶⁺

III. Анализ влияния веществ на микроорганизмы активного ила

Начальные стадии взаимодействия субстратов с активными центрами биосорбента при отсутствии воздействия ингибиторов можно представить схемой:



где k_1 и k_{-1} – константы скорости сорбции и десорбции вещества, k_2 – константа скорости необратимой ферментативной реакции, P – продукты.

Изменение концентрации связанного субстрата описывается кинетическим уравнением:

$$d(E-C)/dt = k_1 \cdot C_0 \cdot E_0 - (k_{-1} + k_2 + k_1 \cdot C_0) \cdot (E-C) \quad (16)$$

где $E-C$ – концентрация фермент-субстратного комплекса в биосорбенте, E_0 – начальная концентрация фермента, C_0 – начальная концентрация субстрата, k_2 – константа скорости ферментативной реакции.

При $E_0 \ll C_0$ и малых временах $C_0 = \text{const}$, что позволяет проинтегрировать (17) после разделения переменных. Интегральное выражение изменения концентрации $E-C$ во времени имеет вид:

$$E-C = k_1 \cdot E_0 \cdot C_0 / (k_1 \cdot C_0 + k_{-1} + k_2) \cdot (1 - \exp(-(k_1 \cdot C_0 + k_{-1} + k_2) \cdot t)) \quad (17)$$

С учетом доли заполнения реакционных центров поверхности (Θ), обозначая $k_1 \cdot C_0 + k_{-1} + k_2 = 1/\tau$ и учитывая, что $K_m = (k_{-1} + k_2)/k_1$, (17) принимает вид

$$\Theta = \Theta_{\max} \cdot (1 - \exp(-t/\tau)), \quad (18)$$

где $\Theta_{\max} = E_0 \cdot C_0 / (K_m + C_0)$.

Уравнение (18) имеет общий вид с уравнением удаления загрязнителей сорбентом (14), но отличается дополнительной стадией – ферментацией веществ, характеризующейся константой k_2 .

В общем случае скорость изъятия загрязнителей из сточных вод биосорбентом зависит от физико-химических факторов среды, транспорта веществ, химического состава вод, присутствия среди них не только субстратов, но и ингибирующих, токсичных веществ и их влияния на процессы жизнедеятельности клеток.

В зависимости от характера веществ, связываемых с ферментами биомембран клеток, могут наблюдаться многообразные эффекты их влияния на активность микроорганизмов, включая разные типы обратимого, необратимого ингибирования и инактивации. Сочетание всех этих факторов значительно осложняет задачу их анализа. В более простых вариантах общая скорость процесса удаления веществ определяется наиболее медленной стадией.

Ж. Моно установил, что в случае лимитирования субстратом C удельная скорость роста клеток (μ) описывается уравнением, сходным с уравнением Михаэлиса-Ментен:

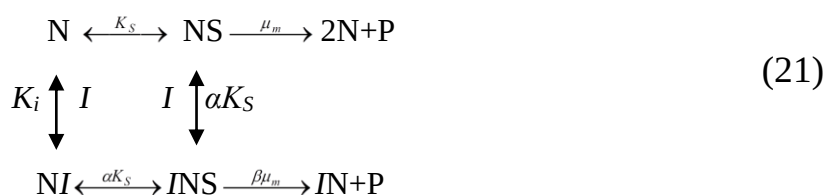
$$\mu = \mu_m \cdot C / (K_c + C). \quad (19)$$

Н.Д. Иерусалимский показал, что для более сложного случая лимитирования субстратом, кислородом, а также в условиях действия ингибиторов, общий вид уравнения связи удельной скорости роста клеток от содержания ключевых факторов среды (уравнение Моно-Иерусалимского) имеет вид [34]:

$$\mu = \mu_m \cdot C / (K_c + C) \cdot O_2 / (K_{O_2} + O_2) \cdot (K_i / (K_i + I)). \quad (20)$$

Это уравнение псевдо 3 порядка. Однако в условиях насыщения субстратом, O_2 , оно превращается в уравнение псевдо 1 порядка, зависящего от содержания ингибиторов (I) или токсичных веществ, что упрощает их анализ.

Общая схема взаимодействия ингибирующих веществ с бактериями активного ила имеет вид [30, 34]:



где α – фактор влияния ингибитора на сродство субстрата к ферменту, β – фактор влияния ингибитора на скорость образования продукта из фермент-субстратного комплекса.

Удельная скорость размножения клеток в присутствии ингибиторов может быть определена из выражения:

$$\mu = \frac{\mu_m \left(\frac{\alpha K_i + \beta I}{\alpha K_i + I} \right) C}{\alpha K_c \left(\frac{K_i + I}{\alpha K_i + I} \right) + C} \quad (22)$$

В зависимости от характера действия ингибиторов различают:

1) *конкурентное ингибирование* ($\alpha \rightarrow \infty$, $\beta = 0$). В этом случае ингибитор конкурирует с субстратом за активный центр фермента, увеличивая величину K_c и не изменяя μ_m .

$$\mu = \frac{\mu_m C}{K_c \left(1 + \frac{I}{K_I}\right) + C} \quad (23)$$

2) *неконкурентное ингибирование* ($\alpha \rightarrow 1$, $\beta = 0$). Ингибитор связывается не в активном центре, а в другом месте фермента. В этом случае он снижает максимальную скорость реакции, не изменяя сродства фермента к субстрату:

$$\mu = \frac{\mu_m C}{\left(1 + \frac{I}{K_I}\right) (K_c + C)} \quad (24)$$

В отличие от конкурентного ингибирования оно не снимается увеличением концентрации субстрата.

3) *смешанное ингибирование*. Ингибитор связывается в активном центре и вне его, одновременно изменяя $V_{\max}$ и K_c .

$$\mu = \frac{\mu_m C}{\left(1 + \frac{I}{K_I}\right) \cdot (K_c \cdot \left(1 + \frac{I}{K_I}\right) + C)} \quad (25)$$

В случае необратимой инактивации клеток при действии токсичных веществ еще нет общепринятой математической модели изменения численности или биомассы микроорганизмов.

Одно из выражений, описывающих изменение содержания живых клеток (N_t) от концентрации тяжелого металла и времени его действия имеет вид [18]:

$$N_t = N_0 \cdot \exp((\mu - k \cdot C^n) \cdot t), \quad (26)$$

где N_0 , μ – начальная концентрация бактерий и их удельная скорость размножения в отсутствии токсичного вещества, k – удельная константа скорости гибели клеток в присутствии токсиканта, C – концентрация токсичного вещества, t – время обработки, n – коэффициент, характеризующий бактерицидное действие веществ от малотоксичного ($n < 1$) до высокотоксичного ($n > 1$).

Тяжелые металлы не являются субстратами, а относятся к модификаторам. Они могут активировать или ингибировать ферменты, что влияет на ростовые процессы и жизнеспособность клеток. На рис. 6 показано влияние ионов Zn^{2+} на удельную скорость размножения клеток *E. coli*.

Как видно из рис. 6, наблюдаются три стадии влияния металла на удельную скорость размножения клеток *E. coli*. При малых дозах Zn^{2+} ($x \leq 2$) отмечается активация размножения бактерий, которую можно описать моделью Перта

$$\mu_1 = \mu_0 + \frac{\mu_{01} \cdot x}{(K_x + x)} \quad (27)$$

Увеличение концентрации цинка $2,0 \leq x \leq 5,6$ приводит к снижению удельной скорости роста клеток до нуля, что характеризует его ингибирующее действие.

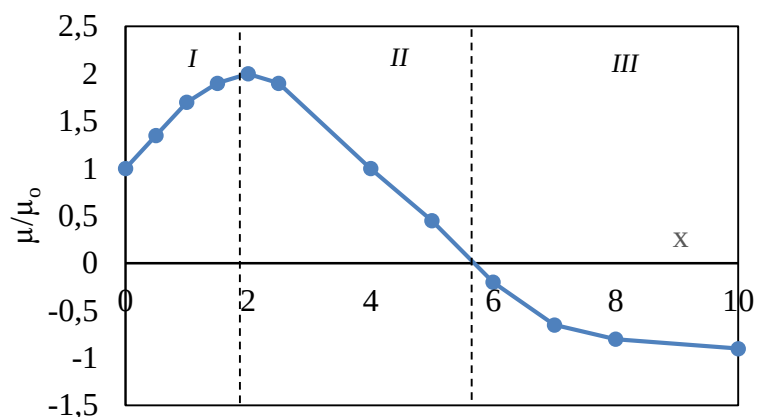


Рис. 6. Влияние концентрации ионов цинка ($x = C/C_0$) на удельную скорость размножения бактерий *E. coli* (μ/μ_0) в относительных величинах:

I – активация; II – ингибирование; III – токсичное действие

Fig. 6. The effect of zinc ions concentration ($x = C/C_0$) on the specific rate of bacteria *E. coli* reproduction (μ/μ_0) in the relative values:

I – activation; II – inhibition; III – toxic effect

При $x > 5,6$ удельная скорость роста численности микроорганизмов становится отрицательной величиной, что указывает на токсичный характер действия цинка.

Изменение ростовой активности клеток во 2 и 3 областях в первом приближении можно описать зависимостью

$$\mu_{2,3} = \frac{\mu_m}{\left(1 + \frac{I}{K_I}\right)} - k \cdot x \quad (28)$$

Следует отметить, что наличие стадии активации размножения клеток наблюдается только для биогенных металлов при малых концентрациях, тогда как у других тяжелых металлов эта область отсутствует и они сразу оказывают ингибирующее и токсичное действие на клетки.

4. Использование реагентной обработки для детоксикации иловых осадков сточных вод

Известен ряд конститутивных и адаптивных механизмов детоксикации тяжелых металлов бактериями, связанный с быстрыми процессами их адсорбции, комплексообразования, ионного связывания на поверхности клеток [36].

В настоящее время предложен ряд реагентных технологий детоксикации иловых осадков [15, 17]. На данном этапе работы был проведен сравнительный анализ эффективности кальциевой и хелатной технологий удаления тяжелых металлов с помощью метода биотестирования токсичности водных вытяжек иловых осадков. Для оценки степени детоксикации осадка в избыточный активный ил добавляли соль Ca^{2+} или ЭДТА в соотношении осадок : реагент = 20 : 1.

На рис. 7 приведены результаты биотестирования токсичности водных вытяжек после детоксикации осадка с помощью используемых реагентов.

Как видно из рис. 7, а, уровень токсичности необработанного осадка – 35%, что позволяет отнести его к среднетоксичным. Водные вытяжки контрольной пробы при разведении в 10 и 100 раз сохраняли токсичность на уровне 20% и 16% соответственно.

После Са-обработки иловых осадков уровень их токсичности снижался в 1,5 раза по сравнению с контрольным образцом (рис. 7, а, б). Наибольшая детоксикация осадков наблюдалась при их обработке ЭДТА (рис. 7, с). Уровень извлечения тяжелых металлов с помощью ЭДТА был в 2 раза выше, чем для Са-реагента при pH 7,0.

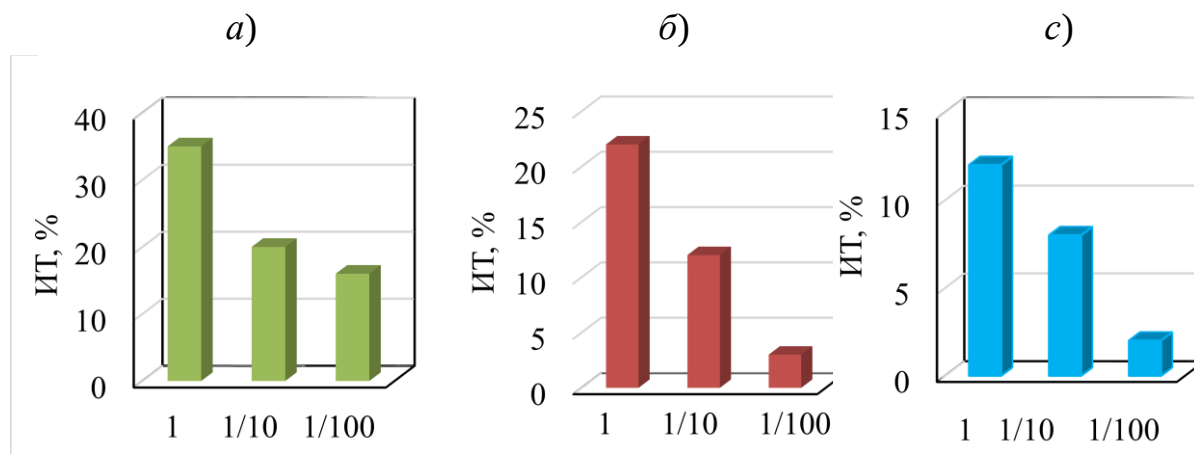


Рис. 7. Изменение индекса токсичности водных вытяжек активного ила в зависимости от степени их разведения: а) до обработки, б) после Са-обработки, с) после ЭДТА-обработки

Fig. 7. Changes in the toxicity index of water extracts of activated sludge depending on the degree of their dilution: a) before treatment, b) after Ca-treatment, c) after EDTA-treatment

Индекс токсичности водных вытяжек после ЭДТА обработки уменьшался в 3 раза по сравнению с контрольной пробой и достигал значений 10 – 12%, что характеризует их как малоопасные. При разведении в 10 и 100 раз они становились практически нетоксичными.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности использования кальциевой и хелатной технологии удаления тяжелых металлов для детоксикации активного ила. Хелатная обработка иловых осадков с помощью ЭДТА обладает большей детоксицирующей способностью, чем Са-обработка. Метод биотестирования водных вытяжек иловых осадков позволяет быстро контролировать степень их детоксикации и определять обратимо и необратимо связанные токсичные вещества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биологическая очистка сточных вод с использованием микроорганизмов активного ила является естественным и основным процессом защиты окружающей среды, обеспечения ее природного гомеостаза в условиях сильнейшего антропогенного воздействия. За 100 лет своего использования она прошла ряд этапов развития и выявила ряд проблем, требующих своего дальнейшего решения.

В работе рассмотрены особенности строения и жизнедеятельности бактерий активного ила, осуществляющих основные этапы и стадии биологической очистки сточных вод. Особенностью бактерий является гидрофитный способ питания, предусматривающий выброс ими гидролитических ферментов из клеток во внешнюю среду для разрушения высокомолекулярных соединений до низкомолекулярных веществ и их транспорт через бактоплазматическую мембрану внутрь клеток. Рассмотрены механизмы выброса ферментов клетками бактерий активного ила и указано на важную роль в них процессов примембранного пищеварения. Совместная работа систем внешнего и примембранного пищеварения осуществляет процессы хемосорбции, модификации и внутриклеточного транспорта веществ, рост и размножение клеток.

Поступая внутрь клеток, вещества вступают в реакции катаболизма и анаболизма с участием внутриклеточных ферментов для получения энергии, конструктивных материалов и роста биомассы клеток. В результате этого происходит самоочистка их поверхности и поддержание градиента концентраций веществ, что служит движущей силой их дальнейшего переноса и утилизации бактериями активного ила.

Более высокая, чем у других микроорганизмов, удельная поверхность (S/V) бактериальных клеток обеспечивает им большую скорость связывания веществ и массообмена с окружающей средой, высокую интенсивность метаболизма и утилизации многих видов биогенных загрязнителей, для чего изначально и была предназначена биоочистка сточных вод активным илом.

Распространение биологической очистки на промышленные сточные воды непостоянного и сложного химического состава породило ряд проблем очистных сооружений, связанных со способностью активного ила аккумулировать на своей поверхности трудно окисляемые, неокисляемые и токсичные вещества, а также с его недостаточной адаптированностью к ним. Это приводит к перегрузке активного ила балластными веществами, не используемыми в метаболизме, и к неполному удалению биогенных элементов из сточных вод.

Все это вызывает необходимость применения различных схем доочистки сточных вод, а также осуществления дополнительных стадий очистки, детоксикации и регенерации активного ила перед его повторным использованием в очистке сточных вод.

С позиции сорбционно-кинетического подхода рассмотрены схемы, объясняющие начальные процессы изъятия веществ из сточных вод, учитывающие процессы их диффузии, физической сорбции, десорбции, хемосорбции с образованием фермент-субстрат-ингибиторных комплексов.

Отмечено, что присутствие балластных и токсичных веществ приводит к ингибированию и инаktivации примембранных ферментов и к уменьшению количества центров связывания субстратов, что негативно влияет на качество очистки сточных вод.

Существующие схемы удаления загрязнителей сточных вод не учитывают заложенную в клетках активного ила природой способность к процессам самозащиты и самовосстановления. Данные процессы еще недостаточно

изучены и их использование позволит помочь активному илу обеспечивать его высокую жизнеспособность и активность.

При характеристике восстановительной способности активного ила разделены понятия его регенерации, очистки и детоксикации. Данные процессы могут быть привязаны к характеру влияния веществ на клетки: активирующему, ингибирующему, токсичному, а также связаны со способом самовосстановления и обновления поверхности клеток.

Основной путь восстановления активности бактерий активного ила – самоочистка поверхности клеток и высвобождение центров связывания веществ за счет ферментативной деструкции трудноокисляемых сорбированных молекул при избытке кислорода.

Другой путь – саморегенерация клеток. Он может осуществляться путем размножения бактерий и образования новой биомассы за счет погибших клеток, а также за счет трофических связей между микроорганизмами, в результате чего ослабленные клетки бактерий выедаются клетками простейших.

Третий путь – самодетоксикация. Известен ряд конститутивных и адаптивных механизмов детоксикации тяжелых металлов бактериями, связанный с быстрыми процессами их адсорбции, комплексообразования, ионного связывания на поверхности клеток при взаимодействии с карбонатными, фосфатными, амино-, гидроксильными, сульфитными и другими группами белков и полисахаридов или медленными процессами активного транспорта тяжелых металлов внутрь клеток и их восстановления, перевода в неактивные формы и выброса их из клеток. К ним относится также выработка продуктов метаболизма, связывающих, осаждающих тяжелые металлы (сероводород, органические кислоты и др.), а также наличие и обмен между микроорганизмами плазмидами устойчивости к тяжелым металлам.

Проведен сравнительный анализ эффективности удаления тяжелых металлов из активного ила при промывке водой, малорастворимой солью кальция и ЭДТА с помощью метода биотестирования токсичности водных вытяжек иловых осадков. Показана возможность применения кальциевой и хелатной технологий удаления тяжелых металлов для детоксикации иловых осадков сточных вод. Уровень извлечения тяжелых металлов из иловых осадков при их обработке ЭДТА комплексоном был в 2 раза выше, чем при Са-обработке.

Метод биотестирования водных вытяжек иловых осадков позволяет быстро контролировать степень их токсичности и детоксикации, а также подбирать наиболее эффективные и безопасные реагенты и условия детоксикации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

CONFLICT OF INTERESTS:

The author declares no conflict of interests.

Список литературы:

1. Гудков А.Г. (2002). *Биологическая очистка городских сточных вод*: Учебное пособие. Вологда: ВоГТУ.
2. Шерстюк М.В. *История московского канализирования и очистки городского пространства* /Новая локальная история/ <http://www.newlocalhistory.com/node/192> (дата обращения 25.01.2022).
3. Environmental US EPA.(2009). *State of Maine Department of Environmental Protection. Notes on Activated Sludge Process Control*.
4. Строганов С.Н. (1925). *Очистка сточных вод посредством активного ила*. Труды XII-го Всероссийского водопроводного и санитарно-технического съезда в Москве. 1922 г. / Ред. П.С. Белов [и др.]. Вып. 1, 119–135.
5. Жмур Н.С. (2003). *Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками*. М.: АКВАРОС.
6. Сироткин А.С., Панкратова С.А., Шулаев М.В. (2002). *Современные технологические концепции аэробной очистки сточных вод*. Казань: Из-во КГТУ.
7. Сидорова Л.П., Снигирева А.Н. (2017). *Очистка сточных вод. Ч.2. Биохимическая очистка. Активный ил. Оборудование*. Екатеринбург: Электр.-текстовое издание. .
8. СанПиН 2.1.7.573-96. 2.1.7. Почва. Бытовые и промышленные отходы. Санитарная охрана почвы. Гигиенические требования к использованию сточных вод и их осадков для орошения и удобрения. М.: Стандартинформ, 1997. 28 с.
9. ГОСТ Р 17.4.3.07-2001. *Охрана природы. Почвы. Требования к свойствам осадков сточных вод при использовании их в качестве удобрений*. М.: Стандартинформ,
10. ГОСТ Р 54534-2011. *Ресурсосбережение. Осадки сточных вод. Требования при использовании для рекультивации нарушенных земель*. М.: Стандартинформ, 2012.
11. Иванкин А.Н., Неклюдов А.Д., Тарасов С.М., Жилин Ю.Н. (2016). *Инженерная экология. Переработка органических отходов: учебное пособие*. М.: ГОУ ВО МГУЛ.
12. Пахненко, Е.П. (2013). *Осадки сточных вод и другие нетрадиционные органические удобрения: учебн. пособие*. М.: БИНОМ: Лаборатория знаний.
13. Калиниченко К.В., Никовская Г.Н., Ульберг З.Р. (2017). *Биоминеральные удобрения на основе илов муниципальных сточных вод*. М.: LAP Lambert Academic Publishing.
14. Новикова, О.К. (2019). *Очистка сточных вод от биогенных элементов: Учебно-метод. пособие*. БелГУТ. Гомель: БелГУТ.
15. Голиков А. П., Казанова Н. А. (2018). География мирового водопотребления: состояние, динамика, перспективы. *Journal of Economics and International Relations*. 17–25.
16. Китаев Ф. Ф., Панова Н. В. (2021). Применение микроорганизмов для очистки сточных вод. VII международной научно-практической конференции «Биотехнология: взгляд в будущее», 02.04.2021, г. Ставрополь, Россия. 2021. Ч. 2. С. 19–23.
17. Солодкова А.Б. Дисс.... канд. тех. наук. (2014). *Обезвреживание отработанного активного ила с получением материалов для решения экологических проблем химических и нефтехимических предприятий.*, Саратов: СГТУ.
18. Игнатенко, А. В., Гриц Н. В. (2003). *Микробиологические, органолептические, визуальные методы контроля качества пищевых товаров. Микрокалориметрия*. Лабораторный практикум. Минск: БГТУ.
19. Игнатенко А.В. Анализ токсичности и детоксикации сточных вод в процессе их биологической очистки. *Химическая безопасность*, 2021, 5(1), 64–80.
20. Северин Е.С. (2004). *Биохимия*. М.: ГЭОТАР-МЕД.
21. Уголев А.М. (1991). *Теория адекватного питания и трофология*. СПб: Наука.
22. Ноздрачев А.Д. (2008). Он с детства не любил овал, он с детства угол рисовал. К 50-летию открытия мембранного пищеварения. *Вестник Российской академии наук*, 2008. 78(9). 820–829.

23. Ежова Г.П., Бабаев А.А., Новиков В.В. (2007). *Биоинформационные аспекты протеомики и деградации белка*. Нижний Новгород: ННГУ.
24. Xia W., & Wolfe M.S. (2003). Intramembrane proteolysis by presenilin and presenilin-like proteases *J. of Cell Science*. 116, 2639–2644.
25. Ишанходжаева М.М. (2012). *Физическая химия. Ч.1. Диффузия веществ в системе с твердой фазой*. СПб: СПбГТУРП.
26. Готтшалк Г. (1982). *Метаболизм бактерий*. М.: Мир.
27. Франк-Каменецкий Д.А. (1987). *Диффузия и теплопередача в химической кинетике*. М.: Наука.
28. Кузнецова Е.А., Черепнина Л.В. (2013). *Ферменты: структура, свойства и применение: учебно-методическое пособие для высшего профессионального образования*. Орел: ФГБОУ ВПО «Госуниверситет - УНПК».
29. White J.S., & White D.C. (1997). *Source Book of Enzymes*. N.Y.: Taylor Francis Inc, P. 1328.
30. Barrett A.J., Rawlings, N.D. & Woessner J.F. (Eds). (2012). *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 3rd Edition. San Diego: Academic Press, 4104 p.
31. Варфоломеев, С.Д. (2005). *Химическая энзимология*. М.: Академия.
32. Литусов Н.В. (2015). *Физиология бактерий*. Иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург: Изд-во УГМУ.
33. Федорова В.Н., Фаустов Е.В. (2008). *Медицинская и биологическая физика*. М.: Геотар-Медиа.
34. Иерусалимский Н. Д. (1963). *Основы физиологии микробов*. М.: Изд-во АН СССР.
35. Синицына Р. В., Верхов Д. Г. (1999). *Некоторые вопросы химической энзимологии и кинетики ферментативного катализа*. Саратов: СГУ.
36. Багаева Т.В., ИONOва Н.Э., Надеева Г.В. (2013). *Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов*. Учеб. - метод. пособие. Казань: КГУ.

References:

1. Gudkov, A.G. (2002). *Biological treatment of urban wastewater*. Vologda: VoGTU. (in Russ.).
2. Sherstyuk, M.V. *History of Moscow sewerage and urban space cleaning*. New local history. <http://www.newlocalhistory.com/node/192> (accessed 25.01.2022).
3. Environmental US EPA. *State of Maine Department of Environmental Protection. Notes on Activated Sludge Process Control*, 2009. 86 p.
4. Stroganov, S.N. (1925). *Wastewater treatment by means of activated sludge*. Proceedings of the XII All-Russian Water and Sanitary-Technical Congress in Moscow. 1922. Issue 1. 1925. P. 119–135. (in Russ.).
5. Zhmur, N.S. (2003). *Technological and biochemical processes of wastewater treatment in plants with aerotanks*. М.: AKVAROS. (in Russ.).
6. Sirotkin, A.S., Pankratova, & S.A., Shulaev, M.V. (2002). *Modern technological concepts of aerobic wastewater treatment*. Kazan': KGTU Publ., P. 164. (in Russ.).
7. Sidorova, L.P. & Snigireva, A.N. (2017). *Wastewater treatment. Part 2. Biochemical purification. Active sludge. Equipment*. Ekaterinburg: Electronic text edition (in Russ.).
8. SanPiN 2.1.7.573-96 «2.1.7. Hygienic requirements for the use of wastewater and its sediments for irrigation and fertilizers. М.: Standartinform. (in Russ.).
9. GOST R 17.4.3.07-2001. *Requirements for the properties of wastewater sediments when using them as fertilizers*. М.: Standartinform (in Russ.).
10. GOST R 54534-2011. *Sewage sludge. Requirements for use for recultivation of disturbed lands*. М.: Standartinform (in Russ.).
11. Ivankin, A.N., Neklyudov, A.D., Tarasov, S.M., & Zhilin, Yu.N. (2016). *Engineering ecology. Processing of organic waste: a teaching staff*. М.: GOU VO MGUL (in Russ.).
12. Pakhnenko, E.P. (2013). *Sewage sludge and other unconventional organic fertilizers*. М.: BINOM: Laboratory of Knowledge. (in Russ.).

13. Kalinichenko, K.V., Nikovskaya, G.N., & Ul'berg, Z.R. (2017). *Biomining fertilizers based on municipal wastewater sludge*. M.: LAP Lambert Academic Publishing.
14. Novikova, O.K. (2019). *Wastewater treatment from biogenic elements*. BelGUT. Gomel': BelGUT (in Russ.).
15. Golikov, A. & Kazakova, N. (2018). *Geography of world water consumption: state, dynamics, prospects*. Journal of Economics and International Relations. 17–25.
16. Kitaev, F.F. & Panova, N.V. (2021) Application of microorganisms for wastewater treatment. VII international scientific-practical conference “Biotechnology: a look into the future”, 02.04.2021, Stavropol', Russia. Issue 2, P. 19–23. (in Russ.).
17. Solodkova, A.B. (2014). *Neutralization of spent activated sludge with the production of materials for solving environmental problems of chemical and petrochemical enterprises*. (Ph.D. Dissertation.) Saratov: Yuri Gagarin State Technical University of Saratov (in Russ.).
18. Ignatenko, A.V. & Grits N.V. (2003). *Microbiological, organoleptic, visual methods of quality control of food products. Microcalorimetry*. Laboratory manual. Minsk: BGUTU. (in Russ.).
19. Ignatenko, A.V. (2021). *Analysis of toxicity and detoxification of wastewater in the process of their biological treatment* // *Khimicheskaya Bezopasnost' = Chemical Safety Science*, 5(1), 64–80. (in Russ.).
20. Severin, E.S. (2004). *Biochemistry*. M.: GEHOTAR-MED (in Russ.).
21. Ugolev, A.M. (1991). *Theory of adequate nutrition and trophology*. SPb: Nauka (in Russ.).
22. Nozdrachev, A.D. (2008). From childhood he did not like the oval, he drew the corner from childhood. To the 50th anniversary of the discovery of membrane digestion. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences*, 78(9), 820–829. (in Russ.).
23. Ezhova, G.P. Babaev, A.A., & Novikov, V.V. (2007). *Bioinformatic aspects of proteomics and protein degradation*. Nizhnij Novgorod: UNN. (in Russ.).
24. Xia, W. & Wolfe, M.S. (2003). Intramembrane proteolysis by presenilin and presenilin-like proteases. *J. of Cell Science*, 116, 2639–2644. (in Russ.).
25. Ishankhodzhaeva, M.M. (2012). *Physical chemistry. Part 1. Diffusion of substances in a system with a solid phase*. SPb: SPbGTURP (in Russ.).
26. Gottshalk, G. (1982). *Metabolism of bacteria*. M.: Mir (in Russ.).
27. Frank-Kamenetskij, D.A. (1987). *Diffusion and heat transfer in chemical kinetics*. M. Nauka. (in Russ.).
28. Kuznetsova, E.A. & Cherepnina, L.V. (2013). *Enzymes: structure, properties and application*. Orel: FGBOU VPO Gosuniversitet–UNPK (in Russ.).
29. J.S. White & D.C. White. *Source Book of Enzymes*. (1997). N.Y.: Taylor Francis Inc.
30. Barrett, A.J. Rawlings N.D., & Woessner J.F. (Eds). (2012). *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 3rd Edition. San Diego: Academic Press.
31. Varfalomeev S.D. (2005). *Chemical Enzymology*. M.: Academy (in Russ.).
32. Litusov, N.V. (2015). *Physiology of bacteria*. Ekaterinburg: UGMU (in Russ.).
33. Fedorova, V.N. & Faustov, E.V. (2008). *Medical and biological physics*. M.: Geotar-Media. (in Russ.).
34. Ierusalimskij, N.D. (1963). *Fundamentals of the physiology of microbes*. M.: AN SSSR. (in Russ.).
35. Sinitsyna, R.V. & Verkhov, D.G. (1999). *Some questions of chemical enzymology and kinetics of enzymatic catalysis*. Saratov: Saratovskij GU. (in Russ.).
36. Bagaeva, T.V., Ionova, N.E., & Nadeeva, G.V. (2013). *Microbiological remediation of natural systems from heavy metals*. Kazan': Kazanskij universitet. (in Russ.).