

Биотехнология защиты окружающей среды: единство биокаталитических и инженерных подходов

С. В. Калужный

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Химический факультет, Кафедра химической энзимологии,
Российская Федерация, 119899 Москва, Ленинские горы.
Факс: (095) 939 5417. E-mail: svk@enz.chem.msu.ru

В обзоре рассмотрены примеры интегрированных подходов, основанных на единстве биокаталитических и инженерных решений, к решению задач биотехнологии защиты от опасных загрязнений трех основных составляющих окружающей среды — почвы, воды и атмосферы. Проанализирована ситуация с нефтяным загрязнением грунтов и водных поверхностей в России, а также представлены результаты полевых испытаний недавно разработанного биопрепарата «Родер» для биоремедиации этих поверхностей. Обсуждены новые решения, позволяющие расширить применение высокоскоростной анаэробной обработки сточных вод при низких температурах (4–10 °С). Рассмотрена эффективность нового анаэробно-аэробного гибридного реактора для минерализации устойчивых к биодegradации сточных вод, содержащих азокрасители. Два последних направления относятся к обычной функции биотехнологии защиты окружающей среды (так называемая «обработка на конце трубы»). Представлена биокаталитическая технология удаления сероводорода и рекуперации элементарной серы из загрязненных газов, которая является новой фазой развития этой дисциплины, характеризующейся возможностью использования отходов.

Ключевые слова: биотехнология защиты окружающей среды, биокатализ, биоремедиация, нефтяные загрязнения, низкотемпературная анаэробная очистка сточных вод, азокрасители, рекуперация серы.

Введение

Термин «окружающая среда» интерпретируется каждым из нас по-разному. Обезоруживающее по своей простоте определение этого понятия было предложено А. Эйнштейном: «Окружающая среда — это все, что не я». Как и все гениальное, это определение лаконично объясняет, почему на пороге 3-го тысячелетия человечество имеет так много экологических проблем. В самом деле, окружающая среда — это типичный пример «трагедии общего»: она принадлежит всем и никому. Как результат, все мы (как на Западе, так и на Востоке), следуя в ушедшем веке поведенческим критериям «общества второй волны» (определение экономиста А. Тоффлера), проэксплуатировали окружающую среду до катастрофического предела.

Решение экологических проблем основано на использовании в основном биокаталитических методов из-за их относительной дешевизны и приемлемой производительности. Принимая во внимание объемы перерабатываемых веществ¹, в настоящее время (например, только в Москве на станциях биологической очистки ежедневно обрабатывается около 7 млн м³ сточных вод) можно утверждать что, биотехнология защиты окружающей среды² является крупнейшей областью промышленного применения биокатализа. Очевидно, что в биотехнологии защиты окружающей среды акцент должен быть сфокусирован на компоненте «био», по крайней мере, не в меньшей степени, чем на компоненте «техноло-

гия», хотя в исторической перспективе, решение проблем окружающей среды было почти исключительно монополизировано санитарной инженерией. Как следствие, компонент «био» до недавнего времени в значительной степени игнорировался и его потенциал использовался далеко не в полной мере. Однако в настоящее время мы столкнулись с рядом глобальных экологических проблем, таких как парниковый эффект, кислотные дожди, истощение озонового слоя, обогащение грунтовых и поверхностных вод питательными компонентами и устойчивыми к минерализации ксенобиотиками, размещение и утилизация твердых городских и животноводческих отходов и т.д. Эти проблемы не могут быть решены ограниченным набором традиционных прямых инженерных подходов (осаждение, фильтрация, выдувание и т.д.), часто являющихся классической иллюстрацией закона Мерфи, т.е. они трансформируют одну проблему в другую, еще более тяжелую. Например, очищая воду, загрязнения или выдувают в атмосферу, или захоранивают в почве, т.е. таким образом загоняют проблемы вглубь. Следовательно, стратегия обработки конкретного типа отходов обязана учитывать все долговременные последствия для окружающей среды. Так, современные системы обработки сточных вод с применением активного ила должны ориентироваться не только на обработку воды как таковую, но также и решать проблемы, связанные с утилизацией избытка активного ила и подавления эмиссии летучих органических соединений и запахов с этих сооружений. Таким образом,

философия в рамках современной биотехнологии защиты окружающей среды должна быть целостной по отношению ко всем составляющим последней. Это требует интеграции многих научных дисциплин, и в первую очередь детальных знаний о механизмах протекающих биокаталитических процессов, а также их эффективного инженерного решения. Естественно, что аспекты человеческой психологии и международной политики также должны приниматься во внимание при разработке новых или модернизации существующих технологий защиты окружающей среды.

В данном обзоре рассмотрены примеры интегрированных подходов, основанных на совокупности биокаталитических и инженерных решений, к решению задач защиты трех основных составляющих окружающей среды — почвы, воды и атмосферы. В первом разделе статьи проанализирована ситуация с нефтяным загрязнением грунтов и водных поверхностей в России, а также представлены результаты полевых испытаний недавно разработанного биопрепарата «Родер» для восстановления (биоремедиации) этих поверхностей^{3–5}. Во втором разделе обсуждаются новые решения, позволяющие расширить применение высокоскоростной анаэробной обработки сточных вод при низких температурах (4–10 °С)^{6–7}. Эффективность нового анаэробно-аэробного гибридного реактора для минерализации устойчивых к биодegradации сточных вод, содержащих азокрасители, рассмотрена в третьем разделе⁸. В заключительном разделе статьи представлена биокаталитическая технология удаления сероводорода и рекуперации элементарной серы из загрязненных газов, практически не требующая использования реагентов^{9–10}.

1. Биоремедиация нефтяных разливов на открытых акваториях, болотах и грунтах с использованием нового биопрепарата «Родер»

Из-за интенсивного транспорта нефти от мест ее добычи к местам ее потребления, а также ее непрерывных утечек из трубопроводов и емкостей для хранения, приблизительно 35 млн т нефти ежегодно попадает в моря и океаны¹¹. Так как 1 т нефти загрязняет 12 км² водной поверхности, то, как установлено аэрокосмической фотосъемкой, уже приблизительно 30% поверхности Мирового океана покрыто нефтяной пленкой². Между тем 1 л нефти удаляет кислород из 40 м³ воды и таким образом приводит к гибели 100 млн икринок рыбы. Нефть даже при таких низких концентрациях в воде как 0.1 мг · л⁻¹ вызывает гибель молодняка морских животных после нескольких дней экспозиции и существенно ингибирует рост микроводорослей³. Токсический эффект углеводов ко всем формам жизни известен давно и обычно объясняется разжижением липидного слоя цитоплазматической мембраны в присутствии нефти¹². На основе представленных выше фактов нефть должна рассматриваться как одно из наиболее опасных загрязнений для окружающей среды из-за ее высокой токсичности и огромных масштабов вторжения в биосферу.

Россия занимает третье место в мире (после Саудовской Аравии и Ирака) по разведанным запасам нефти (62.7 млрд т), а ее добыча в 1999 г. составляла 295 млн т.² В России из-за систематических разливов ~25 млн т нефти (по данным «Гринпис», которые могут быть несколько преувеличенными) ежегодно попадает в окружающую среду³.

Среди множества подходов, предложенных для устранения этих разливов¹¹, три основных метода (механические, физико-химические и микробиологические), применяемые и по отдельности, но чаще в различных комбинациях, рассматриваются в настоящее время как наиболее перспективные методы для российских условий⁴. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки². При аварийных разливах нефти обычно применяются методы механического сбора и удаления нефти и нефтепродуктов с загрязненной поверхности. Однако нефтяное загрязнение при этом, как правило, не удаляется полностью. Физико-химические методы, использующие специальные реагенты (ПАВ, сорбенты, диспергаторы, отвердители и т.д.) могут эффективно концентрировать нефтяные загрязнения, но сами они не всегда безукоризненны с экологической точки зрения и часто опасны для окружающей среды не менее самой нефти. Кроме того, при их применении встает вопрос сбора насыщенного нефтью реагента и последующей его утилизации. Микробиологические методы, использующие как методы биоаугментации («усиления» — добавки биопрепаратов с высокой концентрацией углеводородокисляющих (УВО) бактерий, произведенных *ex situ*), так и методы стимуляции аборигенной микрофлоры, эффективны при доочистке остаточной пленки нефти с водной поверхности, а также при среднем и низком уровне загрязнения грунтов⁴. Однако эффекты при их применении не так заметны в случае высокого уровня загрязнения нефтью. Кроме того, низкие среднегодовые температуры на подавляющем большинстве территории, особенно в местах, где расположены основные месторождения нефти, также являются сдерживающим фактором для применения этих методов в России, потому что активность УВО-бактерий драматически снижается при температурах ниже 10 °С. Несмотря на упомянутые выше ограничения, микробиологические методы привлекают все большее внимание в нашей стране, особенно как последняя («полировочная») стадия ликвидации нефтяных разливов, из-за их относительной дешевизны и способности достичь весьма жестких российских стандартов относительно предельно допустимого уровня загрязнения нефтью. В этом разделе суммируется опыт, накопленный в 1994–1999 годах, по применению недавно разработанного биопрепарата «Родер» для биовосстановления открытых акваторий, болот и грунтов, загрязненных нефтяными разливами.

Биопрепарат «Родер». Биопрепарат, известный под коммерческим названием «Родер» и разработанный во ВНИИ нефти и газа совместно с МГУ¹³, состоит из двух бактерий — *Rhodococcus ruber* и *Rhodococcus erythropolis*, проявляющих синергическое взаимодействие при деградации углеводов.

Индивидуальные штаммы выделены из пластовой воды Бондюжского нефтяного месторождения (Татарстан), а соответствующие чистые культуры депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ индексы 1513-Д и 1514-Д соответственно) и запатентованы^{14,15}. Биопрепарат «Родер» сертифицирован и разрешен для производства и применения на территории России (Гигиеническое заключение № 77.99.11.515.П.4865.8.99, выданное 17.08.99 Министерством здравоохранения РФ) и представляет собой концентрат живых клеток с титром 10^9 – 10^{10} УВО бактерий в 1 мл. Рабочий раствор биопрепарата готовится перед применением путем разбавления концентрированной суспензии водой с добавками некоторых питательных веществ и биостимуляторов.

Загрязненные объекты и методы их восстановления. Полевые испытания биопрепарата «Родер» проводились в 1995–1999 годах на следующих загрязненных нефтью объектах: залив речки Черная (Луховицы, Московская область), озера и заболоченные почвы в окрестностях пос. Вынгаяха, г. Урая и г. Нижневартовска (Западная Сибирь). Некоторые характеристики этих объектов перечислены в табл. 1. Сначала на объектах (в тех случаях, когда это было необходимо и возможно) собирали пролитую нефть механическими средствами (нефтесборщиками), затем применяли биовосстановительную технологию, т.е. распыляли рабочий раствор на загрязненные поверхности с помощью пожарных или поливальных машин. Обычно поверхность обрабатывали «Родером» дважды или трижды с интервалом времени в 2 недели. Вклад аборигенной микрофлоры в биоремедиационный процесс оценивали распылением рабочего раствора, не содержащего «Родер», на участках, имеющих подобный уровень нефтяных загрязнений. Обобщенные результаты полевых испытаний представлены в табл. 1.

Биоремедиация открытых акваторий. Из данных табл. 1 видно, что биопрепарат «Родер» проявляет очень высокую эффективность при обработке открытых акваторий, особенно при низком исходном уровне нефтяного загрязнения (ИУНЗ), как в случае речки Черная. Следует отметить, что концентрация нефти в воде через 4 недели после обработки составляла только $0.04 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, т.е. ниже ПДК, установленных в России ($0.05 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$). Концентрации УВО- и гетеротрофных бактерий к середине обработки увеличивались на 1–2 порядка, а затем снижались до обычного уровня в речной воде из-за уменьшения в ней содержания органических соединений, являющихся источником углерода. Таким образом, обработка биопрепаратом не приводила к существенным нарушениям в составе микробного сообщества, существующего в речной воде. По аналогии и дозировка питательных веществ была выбрана таким способом, чтобы остаточные концентрации фосфата и нитрата в конце обработки были достаточно низкими, дабы предотвратить возможное зарастание водорослями этого водного объекта.

Оба озера в Вынгаяхе имели высокий ИУНЗ (табл. 1), и нефтяная пленка была ясно видна на их поверхностях. Несмотря на довольно жесткие исход-

Таблица 1. Полевые испытания биопрепарата «Родер»⁵

Объект	$S/\text{м}^2$	C_0 / $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	Способ обработки	I (%)
Речка Черная	100	0.44	«Родер» (2 раза)	>99.9
Вынгаяха:				
озеро 1	5000	15.1	«Родер» (3 раза)	>99.9
озеро 2	5000	19.1	«Родер» (3 раза)	99
болото	10000	24.3	«Родер» (3 раза)	65
Урай:				
озеро	1900	11.0	ПМС + «Родер» (2 раза)	96
болото	2000	10.5	ПМС + «Родер» (3 раза)	94
Нижневартовск: торфяник	1000	758–828 (г/кг)	Вспашка +14–24 + «Родер» (3 раза)	

Примечание. S — площадь, C_0 — исходный уровень нефтяного загрязнения в верхнем (10 см) слое, I — эффективность обработки, ПМС — предварительный механический сбор свободной нефти.

ные условия, трехкратная обработка «Родером», сопровождаемая, к счастью, необычно теплой погодой в тот период, привела к почти полному удалению нефтяного загрязнения — остаточные концентрации нефти равнялись 5 и $190 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в озерах 1 и 2 соответственно (табл. 1). При очистке загрязненного озера в Урае (табл. 1) большая часть нефти (90%) была удалена механической уборкой, т.е. уровень загрязнения снизился с $11 \text{ с} \cdot 1.01 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$. Последующая двукратная обработка «Родером» снизила концентрацию нефти в этом объекте до $0.43 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$, а общая эффективность ремедиации составила 96% (табл. 1). Причиной относительно высокого уровня остаточного загрязнения являлись главным образом пропитанные нефтью отложения, накопленные в озере, которые служили непрерывным источником поступления нефти.

Биоремедиация болот. Относительно невысокие результаты биоремедиации болота в Вынгаяхе (табл. 1) объясняются местными геологическими условиями, не позволившими применить предварительную механическую уборку пролитой нефти. Однако, принимая во внимание высокий ИУНЗ ($>24 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) и возраст разлива (4 года), результаты выглядят вполне удовлетворительно — трехкратная обработка «Родером» привела к 65%-ному удалению нефтяного загрязнения (табл. 1). Применение механической уборки на загрязненном болоте в Урае (75%-ное удаление загрязнения), сопровождаемое трехкратной обработкой «Родером», дало 94%-ную общую эффективность ремедиации этого объекта (табл. 1).

Биоремедиация торфяников. Невпечатляющие результаты полевых испытаний биопрепарата «Родер», полученные на заболоченных торфяниках около

Нижневартовска (табл. 1), не являются сюрпризом, если принять во внимание чудовищно высокий ИУНЗ ($>750 \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$ сухого вещества) и возраст разлива (6 лет). Так как подавляющая часть разлитой нефти была адсорбирована торфом, то механическая уборка была невозможна. Предварительная обработка включала только вспашку верхнего слоя загрязненного объекта, известкование (для корректировки pH) и добавление азотнофосфорных удобрений. Средняя (по трем участкам) эффективность биоремедиации составляла 19% (табл. 1) при применении биопрепарата «Родер», тогда как без добавления последнего этот показатель равнялся 13%. Последний факт указывает на высокую УВО-активность аборигенной микрофлоры, развившейся на этом загрязненном объекте в течение 6 лет и существенно стимулированной корректировкой pH и добавкой питательных веществ. Этот вывод был подтвержден определением численности УВО-бактерий на участках без добавления «Родера», которая составляла 10^3 в начале и почти 10^6 клеток $\cdot \text{мл}^{-1}$ в конце экспериментов.

Таким образом, полевые испытания показали очень высокую эффективность биопрепарата «Родер» для ремедиации открытых акваторий, умеренно загрязненных нефтью ($< 20 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$). При более концентрированном загрязнении акваторий (толщина нефтяной пленки $> 3 \text{ мм}$), а также при нефтяных разливах на болотах и грунтах оптимальная стратегия их ремедиации должна включать или предварительную механическую уборку свободной нефти, или применение адсорбентов, или другие методы предварительной обработки, сопровождаемые доочисткой микробиологическими методами. Если по некоторым причинам предварительная обработка невозможна, то тогда рекомендуется многократная обработка загрязненных болот и почв биопрепаратами с периодическим вспахиванием, корректировкой pH и внесением удобрений. На застарелых разливах (> 5 лет), активность аборигенной УВО-микрофлоры обычно уже достаточно высока, что позволяет обойтись без добавок биопрепаратов, произведенных *ex situ*. Экономичная стратегия ремедиации таких разливов может включать просто стимулирование существующей УВО-микрофлоры, уже адаптированной к загрязненному объекту.

2. Анаэробная очистка сточных вод при низких температурах (4–10 °С)

Анаэробная биологическая обработка сточных вод имеет ряд несомненных преимуществ по сравнению с традиционно применяемой в нашей стране аэробной обработкой, особенно для утилизации концентрированных по органическим загрязнениям стоков. К ним относятся отсутствие энергетических затрат на аэрацию (наоборот — генерация энергии в форме биогаза), 10-кратное снижение количества избыточного ила, существенно более низкие потребности в источниках азота, фосфора и других питательных компонентов, повышенные органические нагрузки и т.д.¹⁶ Однако внедрение традиционной анаэробной обработки сточных вод (особенно в странах с

холодным климатом типа России) часто тормозится необходимостью поддержания рабочей температуры в диапазоне мезофильного (30–37 °С) или термофильного (55–60 °С) режимов, что существенно выше температур окружающей среды и большинства сточных вод. В этом разделе обсуждены недавно полученные результаты^{6–7}, которые могут быть использованы для расширения применения анаэробной обработки сточных вод при рекордно низких температурах, а именно при 4–10 °С.

Так как низкие температуры обычно приводят к резкому падению биокаталитической активности метаногенных микроорганизмов, вовлеченных в процессы анаэробной деградации органических загрязнений сточных вод, стратегия в разработке соответствующей технологии должна включать увеличение (в максимально возможной степени) концентрации биокатализатора (биомассы) внутри реактора или/и постепенную адаптацию мезофильных микроорганизмов к низким температурам². Оба эти подхода были реализованы нами^{6–7} использованием гранулированного мезофильного ила с высокой метаногенной активностью и анаэробного реактора с восходящим потоком через слой ила, UASB-реактора, промотирующего самоиммобилизацию (и таким образом накопление внутри реактора) биомассы метаногенного консорциума микроорганизмов в форме хорошо седиментирующихся гранул. Разбавленная барда, полученная дистилляцией низкокачественных вин, использовалась как модельная сточная вода. Общая концентрация органических загрязнений в ней выражалась в единицах химического потребления кислорода (ХПК). Другие детали эксперимента описаны в работах^{6–7}. Результаты долговременной эксплуатации лабораторных UASB-реакторов в психрофильных условиях обобщены в табл. 2.

Одностадийная низкотемпературная обработка. В течение эксперимента *1a* (табл. 2, 10 °С) использовали исходную сточную воду, органическую нагрузку на реактор постепенно увеличивали до 4–5 г ХПК $\cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}$. При этом удаление органических загрязнений в среднем составило 70% (по ХПК). Существенное присутствие пропионата (преобладающий компонент) и ацетата было обнаружено в обработанной сточной воде. Однако в реакторной жидкости детектировались только следы сахаров, этанола и бутирата, в образуемом биогазе — следы водорода. Эти факты ясно указывают, что низкие температуры по-разному влияют на отдельные стадии анаэробного сбраживания, а конверсия пропионата становится основной лимитирующей стадией¹⁷. Следует также отметить, что к концу этого эксперимента произошло примерно 20%-ное расширение слоя ила в реакторе, обусловленное, в первую очередь, существенным ростом биомассы кислотогенных бактерий: аморфная оболочка, покрывающая более плотную центральную часть, была хорошо видна при микроскопическом обследовании агрегатов биомассы из реактора. Такие типы агрегатов могут вызывать флоатацию ила и создавать диффузионные (массообменные) затруднения для пропионатразлагающих и ацетокластических микроорганизмов, обычно располагающихся в центральной части агрегатов, поэтому в

Таблица 2. Обобщенные результаты долговременной эксплуатации лабораторных UASB-реакторов, сбрасывающих винную барду, при низких температурах^{6–7}

Опыт (объект)	T /°C	τ /сут	Реактор	Рецикл	F	t_y /сут	ХПК/г · л ⁻¹		$N_{\text{ХПК}}$ (%)
							инфлюэнт	сток	
1a (A)	9–10	0–67	R	1 : 2.6	0.3–5.1 (2.7)	0.8–5.1 (1.9)	3.6–5.2 (4.0)	0.3–2.7 (1.0)	48–92 (72)
1b (B)	9–10	68–158	R	1 : 2.6	1.4–7.3 (4.7)	0.5–1.6 (0.9)	1.2–9.9 (4.2)	0.5–3.6 (1.8)	48–92 (60)
2a	7–8	159–185	R	1 : 2.6	3.2–4.6 (3.7)	0.85–0.87 (0.86)	2.7–4.0 (3.2)	0.8–1.9 (1.0)	52–79 (68)
2b	7–8	197–236	R	1 : 11.6	2.3–3.5 (3.0)	0.9–1.3 (1.1)	3.0–3.6 (3.2)	0.9–1.5 (1.2)	48–70 (60)
3	3–5	251–273	R	1 : 11.6	1.1–2.7 (1.7)	1.14–1.17 (1.15)	1.3–3.1 (2.0)	0.6–1.5 (0.8)	15–72 (57)
4	9–10	0–63	R1	1 : 1	3.2–5.5 (4.4)	0.8–1.3 (1.0)	3.1–5.4 (4.3)	1.0–3.9 (2.4)	16–76 (46)
			R2	1 : 18	0.8–4.0 (2.5)	0.8–1.2 (1.0)	1.6–3.9 (2.5)	0.4–2.8 (1.2)	24–80 (58)
			R1+R2		1.6–2.8 (2.2)	1.6–2.5 (2.0)			36–91 (78)
5	7–8	82–107	R1	1 : 1	2.3–4.2 (3.5)	1.0–1.1 (1.0)	2.5–4.2 (3.5)	1.3–3.1 (2.3)	19–52 (37)
			R2	1 : 18	1.2–3.0 (2.2)	1.0–1.1 (1.0)	1.4–3.1 (2.3)	0.4–1.9 (1.0)	29–78 (61)
			R1+R2		1.2–2.1 (1.8)	2.0–2.2 (2.0)			42–89 (76)
6	3–5	122–147	R1	1 : 1	2.0–2.7 (2.5)	0.8–1.0 (0.9)	1.9–2.6 (2.4)	1.1–1.9 (1.5)	25–52 (37)
			R2	1 : 18	1.5–2.2 (1.7)	0.8–1.0 (0.9)	1.1–1.9 (1.5)	0.3–1.2 (0.7)	43–74 (53)
			R1+R2		1.0–1.4 (1.3)	1.6–2.0 (1.8)			60–86 (71)

Примечание. R — одиночный реактор, R1 и R2 — два последовательных реактора; τ — длительность эксперимента; F — органическая нагрузка/г ХПК · л⁻¹ · сут⁻¹; t_y — время удерживания сточной воды в реакторе; $N_{\text{ХПК}}$ — количество удаленного ХПК; А — исходная сточная вода, В — преацидифицированная сточная вода. В скобках указаны средние значения.

дальнейшем было решено применять предварительное подбраживание (преацидификацию) сточной воды путем выдерживания ее в открытом сосуде на воздухе в течение 1 суток. Однако переключение реактора на преацидифицированную барду (эксперимент 1b, табл. 2) не привело к увеличению качества очистки, а концентрация пропионата в реакторе часто превышала 1.5 г ХПК · л⁻¹. Чтобы разобраться в процессах, протекающих в низкотемпературном UASB-реакторе, кинетические характеристики ила были определены *in situ*, т.е. в реакторных условиях. Найденные кажущиеся константы полунасыщения (сродства) для этанола и летучих жирных кислот (ЛЖК) оказались достаточно высокими (>1.0 г ХПК · л⁻¹) при вертикальной скорости потока жидкости в реакторе ($V_{\text{уп}}$), равной в наших условиях 0.1 м · ч⁻¹, что подтверждает гипотезу о существовании диффузионных ограничений внутри слоя ила.

Снижение рабочей температуры до 7 °C (эксперимент 2a) не ухудшало качество очистки, хотя органические нагрузки были несколько ниже (~ 4 г ХПК · л⁻¹ · сут) по сравнению с экспериментом 1b (табл. 2). Чтобы смягчить проблемы массообмена, коэффициент рециркуляции был увеличен в течение эксперимента 2b (табл. 2). Как и ожидалось, четырехкратное увеличение $V_{\text{уп}}$ привело к улучшению конверсии ЛЖК, хотя эффективность обработки по полному ХПК слегка снизилась по сравнению с экспериментом 2a. Это было связано с повышенным выносом ила при высоких $V_{\text{уп}}$, так как мелкие агрегаты ила постоянно детектировались в обработанной сточной воде, выходящей из реактора. Дальнейшее уменьшение рабочей температуры до 4 °C сопровождалось уменьшением органической нагрузки в течение эксперимента (табл. 2, опыт 3). В целом же эффективность работы реактора в этих условиях (при обычной температуре бытового холодильника!) была такой же, как в опыте 2b. Вынос ила также наблюдался, но имел тенденцию к затуха-

нию, так как большая часть мелких агрегатов ила уже была удалена из реактора в течение эксперимента 2b. Микроскопическое обследование ила, принятое по завершению эксперимента 3, показало подавляющее преобладание больших аморфных агрегатов (4–5 мм) нерегулярной формы. Такая эволюция ила может быть связана с тем, что инфлюэнт не был полностью преацидифицирован при его суточном выдерживании на воздухе. Например, иногда весьма значительные концентрации этанола (до 2 г ХПК · л⁻¹) и сахаров (до 0.6 г ХПК · л⁻¹) попадали в реактор с инфлюэнтом, стимулируя развитие объемистой кислотогенной биомассы, ухудшающей качество ила. Таким образом, контроль преацидификации представляется существенным фактором для разработки устойчивого процесса анаэробной обработки сточных вод при низких температурах.

Двухстадийная низкотемпературная обработка. Чтобы управлять преацидификацией барды с целью повышения эффективности очистки, два UASB-реактора были последовательно соединены. Реактор R1 служил главным образом как преацидификатор, генерируя ЛЖК для подачи последних в реактор R2. Высокий коэффициент рециркуляции (1 : 18) был применен в реакторе R2, чтобы снизить диффузионные затруднения, в то время как коэффициент рециркуляции в реакторе R1 сохранялся на низком уровне (1 : 1), поскольку массообменные проблемы не столь существенны для быстрой кислотогенной стадии. Ил, накопленный в эксперименте 3 и состоящий из объемистых агрегатов биомассы (см. выше), использовался для инокулирования обоих реакторов. Анализируя результаты, полученные в процессе двухступенчатой UASB-обработки барды (см. табл. 2), подчеркнем следующее. Система с двумя реакторами показала более высокую эффективность очистки и более надежную операционную стабильность (не возникло проблем с флотацией ила или его избыточным выносом) по сравнению с одиночным UASB-реактором при 4–10 °C. Однако достиг-

нутые органические нагрузки были выше в случае одиночного UASB-реактора, если рассматривать общий объем обоих реакторов при двухстадийной обработке. Таким образом, применение последней подразумевает более высокие капитальные вложения и эксплуатационные затраты, которые необходимо принимать во внимание при возможном внедрении анаэробной обработки сточных вод. Вместе с тем, одиночный UASB-реактор, работающий при низких температурах, нуждается в преацидификации (по крайней мере, частичной) стока, чтобы гарантировать его стабильную работу.

Таким образом, анаэробная обработка сточных вод с растворимыми органическими загрязнениями вполне возможна в высокоскоростных реакторах типа UASB даже при температурах столь низких как 4–10 °С. Однако, поскольку в данных условиях наблюдаются существенные массообменные затруднения для таких интермедиатов анаэробного сбраживания как пропионат и ацетат, то применение высоких коэффициентов стока является существенным фактором повышения эффективности анаэробной обработки. В отдельном эксперименте показано, что сточные воды, получаемые в анаэробных условиях, могут быть эффективно доочищены аэробными биологическими методами до принятых стандартов⁷. Все это в целом открывает определенные перспективы для внедрения высокоскоростной анаэробной обработки сточных вод при температурах окружающей среды в странах с холодным климатом.

3. Биоминерализация азокрасителей в новом анаэробно-аэробном гибридном реакторе

Азокрасители составляют основную часть всех красителей, производимых в мире¹⁸. Приблизительно 10–15% от их общего производства попадает в окружающую среду, главным образом через сточные воды¹⁹. Так как сами азокрасители или продукты их распада (например, ароматические амины) оказывают сильное токсическое, мутагенное или канцерогенное действие на живые организмы, то соответствующие стоки перед сбросом должны быть обезврежены. Большая часть азокрасителей весьма устойчива к биодegradации в аэробных условиях, и они обычно проходят недеструктурированными через традиционные аэробные системы обработки сточных вод. Вместе с тем азокрасители относительно быстро обесцвечиваются путем разрыва азо-связи в анаэробных средах. Продукты анаэробного распада азокрасителей более восприимчивы к биодegradации в аэробных, чем в анаэробных условиях. Эти свойства азокрасителей диктуют анаэробно-аэробную последовательность их биоминерализации, для чего обычно используют два отдельных реактора.

С целью оптимизации процесса обработки и экономической эффективности (снижение затрат на аэрацию и площадей под установку) такого рода технологий, мы скомбинировали анаэробную и аэробную фазы в одном реакторе, получившем название анаэробно-аэробный гибридный реактор (AnAHR) (рис. 1). Эффективность AnAHR была исследована на примере биоминерализации азокраси-

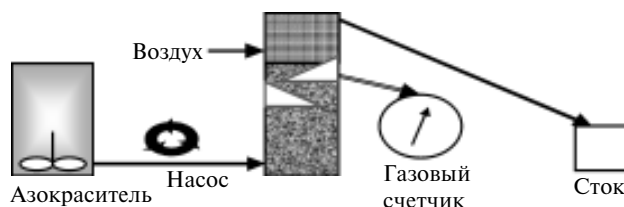
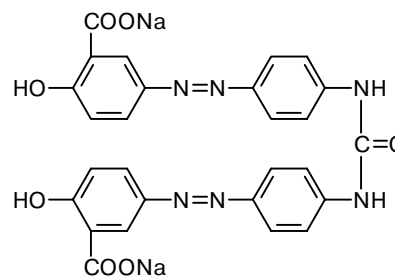


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для биоминерализации азокрасителей в AnAHR.

теля Siriusgelb, структурная формула которого показана ниже:



Результаты этих исследований обобщены в табл. 3.⁸ В течение первых 18 суток эксперимента, когда нагрузка по азокрасителю составляла ~ 0.09 г ХПК \cdot л⁻¹ \cdot сут, средняя эффективность биоминерализации азокрасителя достигала 71%. После увеличения нагрузки по азокрасителю до 0.18 г (19–32 сутки), а затем и до 0.3 г ХПК \cdot л⁻¹ \cdot сут⁻¹ (начиная с 33 суток), эффективность биоминерализации падала в среднем до 64 и 56% соответственно (табл. 3). Тем не менее наблюдаемые в течение всего эксперимента низкие значения оптических плотностей стока при 375 нм (максимум поглощения Siriusgelb) указывают на то, что в реакторе происходило практически полное разложение азокрасителя. Однако полного обесцвечивания обрабатываемого стока не наблюдалось — он оставался слегка розовым по сравнению с интенсивным коричневатожелтым цветом исходного стока. Накопление интермедиата разложения Siriusgelb — 5-аминосалициловой кислоты (5-ASA) — было обнаружено в анаэробной зоне AnAHR, но не в стоке. Концентрация 5-ASA достигала максимума (до 0.06 г ХПК \cdot л⁻¹) сразу же после повышений нагрузки по азокрасителю.

Таблица 3. Обобщенные результаты⁸ биоминерализации азокрасителя Siriusgelb* в AnAHR при 30 °С

τ/сут	НА	$t_{уд}$ /сут	ХПК _{сток}	ΔХПК _{ак}
0–18	0.08–0.10 (0.09)	2.95–3.97 (3.38)	0.03–0.13 (0.09)	57–90 (70)
19–32	0.14–0.23 (0.18)	1.30–2.13 (1.71)	0.07–0.14 (0.11)	53–78 (64)
33–53	0.20–0.40 (0.30)	0.74–1.49 (1.05)	0.05–0.19 (0.13)	37–84 (56)

* В качестве донора восстановительных эквивалентов использовали этанол (концентрации 0.3 (Siriusgelb) и 0.82 г ХПК \cdot л⁻¹ (EtOH)).

Примечание. НА/г ХПК \cdot л⁻¹ \cdot сут⁻¹ — нагрузка по азокрасителю; $t_{уд}$ — время удерживания сточной воды в реакторе. В скобках указаны средние значения.

лю, а затем постепенно снижалась, если нагрузка оставалась постоянной. Этот факт указывает на постепенную адаптацию анаэробной биомассы к разложению 5-ASA.^{20–21} Большая часть азокрасителя (36–41%) была минерализована в анаэробной зоне, в то время как аэробная зона реактора была ответственна за снижение ХПК только на 20–30%.⁸ Такой низкий вклад аэробной стадии, так же как и остаточная окраска стока, могут быть связаны с тем, что продукты анаэробного распада Siriusgelb (5-ASA и 1,4-фенилендиамин) легко автоокисляются до окрашенных полимерных соединений в присутствии воздуха.²¹ Эти полимерные продукты имеют сложную гуминовую структуру и безвредны для окружающей среды, но, как правило, слабо подвержены биодеградации.²¹

Таким образом, испытания нового реактора, называемого AnАНР, на синтетических сточных водах, содержащих азокраситель Siriusgelb, показали, что он обеспечивает практически полное биоразложение этого ксенобиотика и существенно обесцвечивает обрабатываемый сток. Однако полной минерализации органических загрязнений достичь не удалось из-за устойчивых к биодеградации полимерных соединений, образующихся в результате автоокисления интермедиатов анаэробного распада этого азокрасителя. Для оценки применимости этой инновационной реакторной конструкции для обработки промышленных сточных вод, загрязненных азокрасителями и другими ксенобиотиками (например, галогензамещенными соединениями) необходимы дальнейшие исследования.

4. Биокаталитическая технология удаления сероводорода и рекуперации серы из загрязненных газов

Биогаз обычно содержит ~1 об.% H_2S , в то время как природный газ может содержать до 15 об.% H_2S .⁹ Традиционные технологии для очистки таких газов, основанные на химическом связывании в жидкой фазе, физической абсорбции и прямой химической конверсии, имеют ряд очевидных недостатков: высокий расход реактивов, коррозия оборудования, применение высоких температур и давления и т.д., что приводит к высоким производственным издержкам — тонны удаленной серы составляет стоимость 250–750 долл. США.²² Существенно более дешевым альтернативным методом является биокаталитическая технология очистки загрязненных сероводородом газов^{9–10}. Технологическая схема предложенного процесса представлена на рис. 2. В соответствии с этой схемой загрязненный газ пропускается через скруббер, где происходит поглощение H_2S слабощелочным раствором (рН 8.0–8.5) водной фазы. Близкий к нейтральным значениям рН (~7.0) раствор H_2S подается в микроаэробный биореактор, при этом концентрация растворенного кислорода строго контролируется. Биореактор содержит бактерии рода *Thiobacillus*, способные к окислению H_2S до элементарной серы и транспорту последней во внеклеточную среду. Образовавшаяся сера удаляется из реактора седиментацией и может представлять товарный

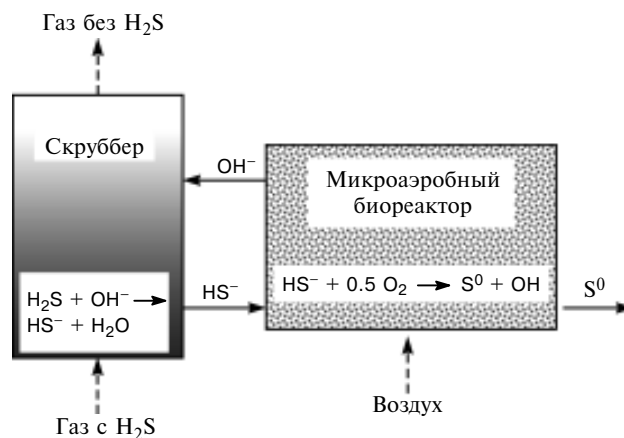
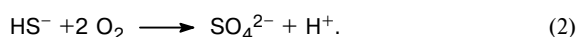
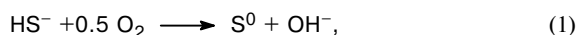


Рис. 2. Технологическая схема биокаталитического процесса удаления H_2S из загрязненных газов.

продукт (например, для получения серной кислоты). Надосадочная жидкость, имеющая слабощелочной рН (8.0–8.5), возвращается в скруббер для абсорбции очередной порции H_2S из природного газа. Таким образом, в предложенной технологии осуществляется практически замкнутый цикл по водной фазе и единственным (в идеале) продуктом является элементарная сера, находящаяся (что крайне важно для ее последующей утилизации) в твердом состоянии.

Так как успех исключительно элегантной технологической схемы, представленной выше, в значительной степени определяется эффективностью работы микроаэробного биореактора, то основные усилия были направлены на оптимизацию его конструкции и производительности^{9–10}. Дело в том, что бактерии рода *Thiobacillus*, используемые в данном процессе в качестве биокатализатора, способны окислять сульфид не только до элементарной серы, но и дальше — до сульфата:



Естественно, что реакция (2) является крайне нежелательной, так как приводит к расходованию щелочного потенциала среды и образованию трудноудаляемого из водной фазы продукта (сульфата). Как показали исследования⁹, реакция (2) в данной системе, хотя и не может быть полностью исключена, но может быть сильно затруднена при создании условий, позволяющих лимитировать кислород и/или при повышенных нагрузках биореактора по сульфиду. Различные реакторные конструкции (традиционный реактор с мешалкой, реактор с внешним аэрируемым контуром, газлифтный реактор) были изготовлены и испытаны в лабораторных условиях для того, чтобы максимально интенсифицировать окисление сульфида по реакции (1) с одновременной минимизацией его конверсии по реакции (2). Наиболее оптимальная в настоящее время из разработанных нами конструкций представляет собой герметичный газлифтный реактор (с замкнутым циклом по газовой фазе), оборудованный датчиками для прямого измерения концентраций растворенного кислорода, сульфида и рН. Для автоматизации про-

цесса управления реактором выходы датчиков были соединены с платой амплитудно-цифрового преобразователя компьютера. Используя этот высокоуправляемый реактор и чистый кислород (вместо воздуха), удалось достичь 94–98%-ной эффективности конверсии сульфида в элементарную серу при нагрузках по сульфиду $\sim 15 \text{ г S} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут.}$ ^{9–10}

Суммируя сказанное, можно отметить следующие бесспорные преимущества разработанной биокаталитической технологии для очистки сероводородсодержащих газов по сравнению с традиционными технологиями:

1) практически безреагентный характер (небольшие количества минеральных солей требуются для роста бактерий, а также щелочь для подтитровки среды в скруббере);

2) дешевизна;

3) высокие эффективности удаления сероводорода;

4) практически замкнутый цикл и минимальное количество сточных вод;

5) единственным продуктом процесса является элементарная сера, которая может быть легко утилизирована;

6) проведение процесса при давлениях и температуре окружающей среды, что делает его безопасным;

7) компактность реализации.

Заключение

Представленные примеры показывают, что при создании оптимальных условий для роста микроорганизмов в надлежащим образом спроектированных инженерных системах скорости целевых процессов обработки отходов могут быть существенно повышены. Это облегчает решение многих проблем биотехнологии защиты окружающей среды. Кроме того, в последнее время эта дисциплина постепенно трансформируется: обычная функция (так называемая «обработка на конце трубы») уступает место новой, характеризующейся возможностью сохранения ресурсов, которые находятся в отходах. Типичный пример — обсуждаемая выше биокаталитическая технология рекуперации серы из газов, загрязненных H_2S .

Рассматриваемые в данной статье исследования выполнены при финансовой поддержке ИНТАС (гранты 96-1809 и 96-2045), Нидерландской организации научных исследований (NWO, грант 97-29925), программы IPP Министерства энергетики США (грант 325733-A-G2), Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 99-15-96064 и № 01-04-49601-а), Министерства науки и техноло-

гий России (проект № 99-419), Павельцовской нефтебазы (Московская область), компаний «Лукойл-Урайнефтегаз», «Ноябрьскнефтегаз», «Грин» (Нижегородск) и «Оренбурггазпром».

Список литературы

1. S. V. Kalyuzhnyi, *Moscow University Chemistry Bulletin*, 2000, **41**, No. 6 (supplement), 15.
2. А. М. Боронин, *Химия в интересах устойчивого развития*, 2000, **8**, 479.
3. В. П. Мурыгина, М. У. Аринбасаров, С. В. Калюжный, *Экология и промышленность России*, 1999, № 8, 16.
4. S. Kalyuzhnyi, V. Muragina, and M. Arinbasarov, *Proc. of the IAWQ Specialty Conf. of Chemical and Petrochemical Industries Group «Critical Technologies to the World in 21st Century: Pollution Control and Reclamation in Process Industries»*, Beijing, 18–20 September, 2000, 456–463.
5. V. Muragina, M. Arinbasarov, and S. Kalyuzhnyi, *Biodegradation*, 2001, **12** (in press).
6. S. V. Kalyuzhnyi, M. A. Gladchenko, V. I. Sklyar, O. V. Kurakova, and S. S. Shcherbakov, *Environ. Technol.*, 2000, **22**, 919.
7. S. V. Kalyuzhnyi, M. A. Gladchenko, V. I. Sklyar, Ye. S. Kizimenko, and S. S. Shcherbakov, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2001, **90**, 107.
8. S. Kalyuzhnyi and V. Sklyar, *Wat. Sci. Technol.*, 2000, **41** (12), 23.
9. С. В. Калюжный, В. В. Федорович, *Экология и промышленность России*, 2000, № 2, 33.
10. С. В. Калюжный, В. В. Федорович, *Нефть, газ и бизнес*, 2000, № 1, 51.
11. E. Rosenberg and E. Z. Ron, in *Bioremediation: principles and applications* (Eds. R. L. Crawford, D. L. Crawford), Cambridge University Press, New York, 1996, 100–124.
12. H. B. Currier and S. A. Peoples, *Hilgardia*, 1954, **23**, 155.
13. Патент РФ №2090697 (1997).
14. Патент РФ №2069492 (1996).
15. Патент РФ №2069493 (1996).
16. G. Lettinga, *Wat. Sci. Technol.*, 1996, **33**, 85.
17. S. Rebac, *Psychrophilic anaerobic treatment of low strength wastewaters*, Ph. D. Thesis, Wageningen Agricultural University, 1998.
18. C. M. Carliell, S. J. Barclay, N. Naidoo, C. A. Buckley, D. A. Mulholland, and E. Senior, *Water SA*, 1995, **21**, 61.
19. N. C. G. Tan, A. Borger, P. Slenders, A. Svitelskaya, G. Lettinga, and J. A. Field, *Wat. Sci. Technol.*, 2000, **42**, 337.
20. S. Kalyuzhnyi, V. Sklyar, T. Mosolova, I. Kucherenko, J. Russkova, and N. Degtyarova, *Wat. Sci. Technol.*, 2000, **42**, 363.
21. E. Razo-Flores, *Biotransformation and Biodegradation of N-Substituted Aromatics in Methanogenic Granular Sludge*, Ph. D. Thesis, Wageningen Agriculture University, 1997.
22. J. A. Lagas, in *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering*, Eds. P. Lens and L. Hulshoff Pol, IWA Publishing, London, 2000, 237–264.

Поступила в редакцию ;
после доработки — 22 августа 2001