

Введение Вопросы предотвращения загрязнений окружающей среды с каждым годом приобретают все большую актуальность. На предприятиях нефтеперерабатывающей и нефтехимической промышленности одна из основных экологических проблем связана с необходимостью обезвреживания или утилизации сернисто-щелочных стоков (СЩС). Такие стоки являются химически загрязненными и при сравнительно небольших объемах имеют высокие концентрации биотоксикантов [1], что делает невозможным непосредственное применение микроорганизмов для очистки СЩС. В промышленности получил распространение способ окисления СЩС в жидкой фазе кислородом воздуха под давлением. В случае применения катализаторов скорость окисления возрастает, однако окисление гидросульфидов и сульфидов протекает через ряд последовательных реакций, основным продуктом окисления является тиосульфат. В целях обеспечения более глубокой конверсии и повышения эффективности процесса интерес представляет разработка способа обработки СЩС, предварительного подвергнутых каталитическому окислению, культурой сероокисляющих микроорганизмов, иммобилизованных на поверхности гетерогенного катализатора процесса сероокисления. Известно [2], что иммобилизованные клетки долговечнее и значительно стабильнее суспендированных клеток, что обуславливает экономичность, эффективность и конкурентоспособность технологий, использующих иммобилизованные клетки. Применение накопительной культуры сероокисляющих микроорганизмов обусловлено, с одной стороны, большей устойчивостью смешанной культуры в промышленных условиях в сравнении с чистой культурой. С другой стороны, применение сероокисляющих микроорганизмов позволяет обеспечить активную поверхность катализатора в отличие от быстрого биообрастания поверхности в случае применения активного ила. На основании анализа литературных данных было предположено, что процесс биоокисления иммобилизованной биомассой может быть интенсифицирован вследствие увеличения скорости диффузии кислорода внутрь клеток микроорганизмов с поверхности катализатора [3].

Экспериментальная часть Объектом исследований являлся модельный раствор (МР) сернисто-щелочного стока СЩС ОАО «Сибур - Нефтехим» после каталитического окисления с учетом разбавления в 20 раз (табл. 1). Таблица 1 - Состав сернисто-щелочных стоков № п/п Компонент стока СЩС Окисленные катализатором МР (с учетом разбавления ~ в 20 раз)

1	Массовая доля сульфида натрия, г/дм ³	0,6	~0,03
2	Массовая доля сульфита натрия, г/дм ³	7,9	~0,4
3	Массовая доля сульфата натрия, г/дм ³	12,6	~0,2
4	Массовая доля тиосульфата натрия, г/дм ³	46	~3,7
5	pH	12,4	~7,7

Для биоокисления соединений серы в составе модельного раствора использовалась ассоциация иммобилизованных сероокисляющих микроорганизмов, выделенная из биопленки, полученной в процессе длительной биофильтрации сточных вод производства нитроцеллюлозы (ФКП «ГосНИИХП») в лабораторных условиях [4]. В качестве

носителей клеток микроорганизмов использовались два гетерогенных катализатора: КС-20, содержащий 20% масс. фталоцианина кобальта в полиэтиленовой матрице, а также Ni+ПП с никелем, диспергированным в поверхность полипропилена. Каждый из катализаторов был выполнен в виде кубиков с размером грани 2x2 мм. В качестве объекта сравнения использовался инертный носитель - полиэтиленовые гранулы КАЗПЭЛЕН марки 15313-003 по ГОСТ 16337-77. Гранулы имели цилиндрическую форму 3x2 мм с небольшим углублением посередине. Иммунизация клеток сероокисляющих микроорганизмов проводилась в селективной стерильной питательной среде Бейеринка. Из расчета на 200 см³ питательной среды вносилась бактериальная суспензия сероокисляющих микроорганизмов (84•10³КОЕ) в количестве 40 см³ (20 % об.). Объем носителя составил 10 см³. Продолжительность иммобилизации составляла 26 сут. Эффективность иммобилизации оценивалась по количеству микробного белка, определенного методом Брэдфорд [5]. На следующем этапе были проанализированы результаты процесса очистки МР СЩС иммобилизованными культурами сероокисляющих микроорганизмов. Для экспериментальных исследований были созданы следующие опытные системы (ОС): ОС1 - гетерогенный катализатор (КС-20); ОС2 - гетерогенный катализатор КС-20 + культура сероокисляющих микроорганизмов (биокаталитическая система БКС-20); ОС3 - гетерогенный катализатор (Ni+ПП); ОС4 - гетерогенный катализатор Ni+ПП + культура сероокисляющих микроорганизмов (БNi+ПП); ОС5 - полиэтиленовые гранулы (ПЭ) + культура сероокисляющих микроорганизмов (БПЭ); ОС6 - контрольная - МР СЩС, для анализа окисления соединений серы кислородом воздуха. В опытных системах с микроорганизмами (ОС2, ОС4, ОС5) после проведения иммобилизации клеток осуществлялась замена питательной среды культивирования на МР СЩС в объеме 100 см³ (табл. 1). В системах с катализаторами ОС1 и ОС3 объем вносимого катализатора составлял 10 см³. В контрольную систему ОС6 вносился МР СЩС в объеме 100 см³. Периодическое культивирование сероокисляющих микроорганизмов осуществлялось на перемешивающем устройстве n = 120 об/мин при температуре 26÷29°C ±1 в течение 9 суток, после чего проводилось повторное культивирование в течение 4 суток с МР СЩС того же состава (табл.1) с внесением суспензии микроорганизмов в ОС2 и ОС5 в количестве 20% об. (системы ОС3 и ОС4 не анализировались). Результаты и их обсуждение В процессе иммобилизации клеток сероокисляющих микроорганизмов на поверхности носителей было установлено, что микробные клетки интенсивно прикрепляются к поверхности катализаторов и полиэтиленовых гранул, так как поверхность носителей близка по свойствам. Средняя концентрация белка микробной биомассы по результатам отбора проб из объема питательной среды в системах с носителями КС-20, никелевый катализатор, полиэтилен составляла 28,9; 31,1; 33,2 мг/дм³, соответственно. Тиосульфат натрия является основным субстратом для

выделенной культуры микроорганизмов. Максимальная эффективность окисления по субстрату составила 95,9% для биокаталитической системы с клетками, иммобилизованными на поверхности катализатора КС-20. При этом отмечено, что биоокисление субстрата в системе с инертным носителем происходит интенсивнее (эффективность составила 74,0%), чем в системе с никелевым катализатором (34,7%). Кинетика изменения концентрации тиосульфат-ионов в процессе очистки МР СЩС представлена на рис. 1. Рис. 1 - Изменение концентрации тиосульфат - ионов в процессе окисления МР СЩС

Эффективность химического окисления тиосульфатов в системах с гетерогенными катализаторами (ОС1, ОС3) приблизительно одинакова и составляет менее 60%, что связано с условиями проведения очистки. Следует отметить, что оптимальная температура каталитической реакции 60оС - 90оС, перемешивание 1400 об/мин, подача кислорода 20 л/час, масса катализатора к объему реакционного раствора 5 г на 50 мл [6]. Создание таких условий в системах биологической очистки ограничивается, прежде всего, соблюдением температурного режима, оптимального для жизнедеятельности микроорганизмов (23÷33 оС). Отмечено, что в биокаталитической ОС4 эффективность окисления ниже, чем в системе с тем же катализатором ОС3, что, вероятно, связано с ингибированием ферментов прикрепленных клеток на поверхности катализатора никелем. При этом накопительная культура состоит преимущественно из сероокисляющих бактерий, которые являются медленнорастущими, что приводит к незначительному уменьшению поверхности контакта фаз катализатора Ni+ПП и снижению его окислительной способности (менее 10%). Далее отмечено, что микроорганизмы на поверхности инертного носителя в ОС5 проявляют значительную активность (рис. 1). Наибольшее изменение концентрации тиосульфат-ионов на 9 сутки относительно их начального содержания составило 3690,5 мг/дм³ для ОС2. Отмечено, что в первые трое суток каталитическая ОС1 (КС-20) и биокаталитическая система ОС2 (БКС-20) сопоставимы по снижению концентрации тиосульфат-ионов. Конечным продуктом окисления серы является сульфат, результаты изменения концентрации сульфат-ионов в процессе окисления серосодержащих соединений МР СЩС представлены на рис. 2. Рис. 2 - Изменение концентрации сульфат-ионов в процессе окисления МР СЩС

Показано, что эффективность химического окисления тиосульфат-ионов по результатам накопления продукта реакции в системах с гетерогенными катализаторами (ОС1, ОС3) составила ~70%, что сопоставимо с контрольной системой (ОС6). В ОС4 эффективность окисления по накоплению продукта ниже, чем в системе с катализатором (ОС3), что подтверждает данные по окислению субстрата (рис. 1). В общем, в системах с биопленкой (ОС2, ОС5) эффективность по продукту примерно на 10% выше, чем в контрольной системе, а также в каталитических системах. В экспериментальных системах ОС2, ОС5 на внутренней поверхности колбы с

накопительной культурой было отмечено вещество желтого цвета, нерастворимое в воде, предположительно, элементарная сера. Вероятно, невысокая эффективность окисления по накоплению продукта определяется особенностями биохимии превращений у сероокисляющих микроорганизмов. Серные бактерии, являющиеся ацидофильными, а также предпочитающими нейтральные значения pH, окисляют соединения серы различными путями. У некоторых ацидофильных видов (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidith. thiooxidans*) промежуточным продуктом окисления серы является тетрагидрат серы, тогда как у некоторых нейтрофилов (например, *Thiobacillus thioaragus*) это может быть тиосульфат, который далее гидролизует до молекул S_0 и сульфита, также можно наблюдать быстрое внутриклеточное образование элементарной серы хемолитотрофами, использующими сероводород [7]. Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что наиболее эффективной системой является биокаталитическая система с использованием биопленки на поверхности полиэтиленовых гранул, включающих катализатор фталоцианина кобальта в количестве 20 % масс. (КС-20). В биокаталитической системе с биопленкой на поверхности никелевого катализатора не было обнаружено положительного эффекта от их взаимодействия. Более того, показано, что в биокаталитической системе (ОС4) эффективность очистки по субстрату ниже, чем в случае с биопленкой на инертном носителе (ОС5), что указывает на токсическое воздействие катализатора на микроорганизмы. Исходя из полученных данных, можно предположить, что взаимодействие биологической и каталитической составляющей обусловлено химической структурой катализатора. Некоторые тяжелые металлы (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} и др.) могут действовать как сильные ферментные яды даже в незначительных концентрациях, как в виде солей, так и в форме органических соединений, связывая SH-группы и тем самым глубоко изменяя третичную и четвертичную структуру ферментных белков [8]. Однако, фталоцианиновая производная кобальта в катализаторе КС-20 показала себя как нетоксичная реакционно способная форма катализатора в отличие от никелевого катализатора. Внесение суспензии микроорганизмов в биологическую и биокаталитическую системы при повторном культивировании биопленки было обусловлено необходимостью сокращения продолжительности очистки. Было предположено, что в среде не должно наблюдаться ингибирования суспендированных клеток, связанного с окислением неорганических сульфидов на поверхности катализатора, что позволит обеспечить взаимодействие биологической и каталитической составляющей с начала процесса. Результаты изменения концентрации тиосульфат-ионов в процессе повторной очистки МР СЩС представлены на рис. 3. Рис. 3 - Изменение концентрации тиосульфат - ионов в процессе повторного окисления МР СЩС с внесением суспензии микроорганизмов Исходя из полученных данных, на 3 сутки эксперимента наблюдается полное исчерпание

основного субстрата для биокаталитической системы ОС2 (рис. 3). Накопительная культура микроорганизмов, внесенная в ОС2 и ОС5 при повторном культивировании биопленки, представляет собой активную биомассу, адаптированную к составу стока. Следует отметить, что выделение накопительной культуры проводилось в питательной среде Бейеринка, дальнейшее культивирование (16 суток) - отъемно-доливным способом с внесением МР СЦС. Согласно полученным результатам, эффективность очистки по продукту количественно сравнима с предыдущими данными очистки (рис.2), однако, позволяет сократить продолжительность процесса в два раза. В табл. 2 представлен материальный баланс серы в МР СЦС в процессе его повторной очистки. Для составления баланса приняты следующие коэффициенты пересчета на элементарную серу: для тиосульфат-, полиотионат-иона - 0,57; для сульфат-иона - 0,33. Концентрация серы в сульфид-ионе в расчете принята пренебрежимо малой. Таблица 2 - Материальный баланс серы

Начало эксп.	S/ S2O32-	S/ S4O62-	S/ SO42-	Σ	Разница/ баланс	
ОС1	2034,6	- 64,7	2099,3	- ОС2	2034,6	
- 64,7	2099,3	- ОС5	2034,6	- 64,7	2099,3	
- ОС6	2034,6	- 64,7	2099,3	- 1 сутки	эксперимента	
ОС1	1413,9	482,8	74,6	1971,3	128,0	
ОС2	1103,5	655,2	106,3	1864,9	234,3	
ОС5	1069,0	827,6	71,9	1968,6	130,7	
ОС6	1862,2	310,4	95,7	2268,3	-168,9	
3 сутки эксперимента	ОС1	1241,5	517,3	168,9	1927,7	171,6
ОС2	- 275,9	409,2	685,1	1414,2	ОС5	206,9
310,4	310,9	828,1	1271,2	ОС6	1448,4	
108,2	108,2	2073,9	25,4	4 сутки эксперимента	ОС1	1241,5
655,2	201,9	2098,6	0,66	ОС2	- 482,8	
442,2	924,9	1174,3	ОС5	68,9	379,3	
343,9	792,2	1307,1	ОС6	1482,9	586,2	
141,2	2210,3	-111,1	Погрешность/потери серы при проведении измерений принимаем не более ±150 мг. Таким образом, в ОС2 и ОС5 разница в балансе серы ~1000 мг, что может быть отнесено на образование элементарной серы микроорганизмами. В процессе гидролиза клеток на поверхности носителей гидроокисью натрия (2Н NaOH) отмечен запах сероводорода. Можно предположить, что произошла следующая реакция [9]: $3S + 6NaOH = Na_2SO_3 + 2Na_2S + 3H_2O$ Сульфид натрия $Na_2S \times 9H_2O$ имеет запах сероводорода вследствие протекающей реакции замещения с участием диоксида углерода. В ходе исследований отмечено максимальное накопление микроорганизмов на поверхности катализатора КС-20 по концентрации белка (350 мкг/см ³), что говорит о высоком сродстве микроорганизмов к данному катализатору, обусловленном процессами превращения компонентов сточных вод химическим и биологическим путями. Накопление микроорганизмов в ОС2 более чем на 30 % было выше, чем для системы с биопленкой на инертном носителе ОС5. На поверхности никелевого катализатора микроорганизмы накапливаются на 48 % в меньшей степени в сравнении с ОС5 и почти на 75 % хуже, чем для ОС2. Таким образом, внесение активной суспензионной культуры микроорганизмов обеспечивает высокий суммарный эффект взаимодействия биологической и каталитической составляющей с самого начала эксперимента, что позволяет сократить			

продолжительность процесса очистки.