

Т. В. Кирилина, До Тхи Тху Ханг, А. С. Сироткин

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДООЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ И МНОГОКЛЕТОЧНЫХ ГИДРОБИОНТОВ

Ключевые слова: биогенные вещества, элодея, хлорелла, активный ил, нитрификация.

В процессе экспериментальных исследований была оценена эффективность процесса доочистки сточных вод от биогенных элементов с помощью элодеи *Elodea canadensis* Rich и хлореллы *Chlorella vulgaris*, а также при их совместном культивировании с микроорганизмами активного ила коммунально-бытового стока. Показано, что при культивировании одноклеточных и многоклеточных гидробионтов наблюдается повышение эффективности очистки сточных вод от соединений азота. Эффективность удаления аммонийного азота и азота нитритов в процессе исследований достигала практически 100 %. Вклад нитрифицирующих бактерий в процесс совместного удаления аммонийного азота хлореллой и бактериями составляет в среднем 21 %, элодеи и бактериями - в среднем 31,5 %.

Keywords: nutrients, elodea, chlorella, activated sludge, nitrification.

In laboratory experiments, there has been studied the efficiency of the waste-water biogenic substances aftertreatment by using *Elodea canadensis* Rich and *Chlorella vulgaris*, as well as their cocultivation with activated sludge microorganisms of domestic wastewater. It has been shown that the efficiency of waste-water treatment from the nitrogen compounds increasing by cultivation of unicellular and multicellular hydrocole. Efficiency of nitrogen of ammonia and nitrite removal achieved practically 100 %. In this case, the contribution of nitrifying bacteria in the process of combined disposal of ammonium nitrogen by chlorella and bacteria average 21 %, by elodea and bacteria - average 31,5 %.

Введение

Серьезной экологической проблемой в России, вообще, и в Республике Татарстан, в частности, является напряженная ситуация с обеспечением качества воды водоемов вследствие сброса в них недостаточно очищенных сточных вод (СВ). Очистка СВ по известным на сегодняшний день технологиям является достаточно непростым и экономически невыгодным процессом.

Приоритетной задачей очистки СВ является изъятие биогенных веществ – соединений азота и фосфора, вызывающих эвтрофикацию водоемов. При этом перспективные исследования направлены на поиск эффективных и экономичных методов переработки стоков. Одним из решений указанной проблемы является использование одноклеточных и многоклеточных гидробионтов для доочистки воды.

Поскольку в самоочищении воды участвуют бактерии, грибы, простейшие, водоросли, высшие водные растения и другие гидробионты, особый интерес приобретают исследования роли каждого биологического объекта в отдельности и взаимосвязи друг с другом в процессах удаления из водной среды основных биогенных элементов.

Участие высших водных растений, в том числе элодеи канадской в самоочищении водоемов хорошо известно [1-3]. Многоклеточные водоросли поглощают тяжелые металлы и радионуклиды, биогенные элементы, ароматические соединения и цианиды. Основная роль высших водных растений раньше сводилась лишь к поглощению и накоплению токсикантов, а также к выполнению функции механического и трофического субстрата для микроорганизмов. Затем появились сведения о фитотрансформации ксенобиотиков ферментными системами водных растений [4-8].

Водным растениям и микроорганизмам принадлежит ведущая роль в процессах очистки и доочистки водных систем, однако при этом имеет место нехватка сведений о реальных механизмах их взаимоотношений. Эта информация может иметь как фундаментальное значение, так и являться основой для создания биотехнологических процессов очистки воды и ремедиации водоемов.

Цель данной работы заключалась в оценке эффективности использования одноклеточных и многоклеточных водорослей отдельно и совместно с микроорганизмами для доочистки сточных вод коммунально-бытового характера от соединений азота.

Материалы и методы

Работа была выполнена в лаборатории кафедры промышленной биотехнологии Казанского национального исследовательского технического университета.

В качестве объектов исследований были отобраны представители: *Chlorella vulgaris* (хлорелла), *Elodea canadensis* (элодея канадская), микроорганизмы активного ила аэротенков станции биологической очистки городских очистных сооружений г. Казани, МУП «Водоканал». В качестве коммунально-бытовых сточных вод, направляемых на доочистку, выступал их модельный раствор, содержащий основные биогенные элементы: NH_4Cl - 25 мг/дм³, NaNO_2 - 20,0 мг/дм³, KH_2PO_4 - 20,0, KNO_3 - 57,0 мг/дм³. Таким образом, модельный раствор сточных вод являлся питательной средой для культивирования микроорганизмов и водорослей в системе доочистки.

Накопление нитрифицирующего микробиоценоза активного ила проводилось в процессе предварительного культивирования активного ила объемом 50 см³ в модельном растворе сточных вод объемом 450 см³, не содержащем источников органического углерода, при температуре 20⁰С с постоянной аэрацией в течение 4 суток.

Полученную микробную суспензию активного ила вносили в количестве 100 см³ в 900 см³ модельного раствора сточных вод с хлореллой и элодеей. Длительность культивирования составляла 14 суток, что было связано с глубоким, практически полным исчерпанием за этот период ионов аммония как основного источника азота.

На начальном этапе экспериментальных исследований осуществлялся отбор образцов *Elodea canadensis* для каждой емкости с их регистрацией для дальнейшего анализа роста и развития фитомассы (табл.1).

Таблица 1 - Начальные характеристики образцов элодеи для отдельного и совместного с активным илом культивирования

Образцы элодеи	1	2	3
отдельное культивирование			
Длина, см	30,4	24,5	44,7
Масса, г	0,815	0,693	2,533
Общая фитомасса, г	4,041		
совместное культивирование			
Длина, см	27,0	27,0	29,0
Масса, г	1,468	1,34	1,703
Общая фитомасса, г	4,805		

В процессе экспериментальных исследований содержание в воде ионов NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻ контролировали с помощью фотоколориметрического метода. Полученные результаты подвергли статистической обработке.

Анализ эффективности удаления биогенных веществ из воды при совместном культивировании микроорганизмов активного ила и хлореллы

Приведенные на рис. 1 данные показывают, что в системе совместного культивирования хлореллы и активного ила наблюдалось более интенсивное поглощение аммонийного азота, чем при отдельном культивировании хлореллы.

Совместное культивирование хлореллы и активного ила обеспечивало 100 %-ю эффективность удаления аммонийного азота уже на 10-е сутки эксперимента, в то время как при культивировании хлореллы без активного ила эффективность удаления аммонийного азота на 14-е сутки не превышала 90 %. Очевидно, что данный факт определен совместным вкладом в потребление аммонийного азота хлореллы и нитрифицирующих бактерий, окисляющих аммонийный азот в азот нитритов и, в конечном счете, до азота нитратов [9].

В данном случае вклад нитрифицирующих бактерий в процесс совместного удаления аммонийного азота составлял от 4,4 % до 39% , в среднем – 21 %.

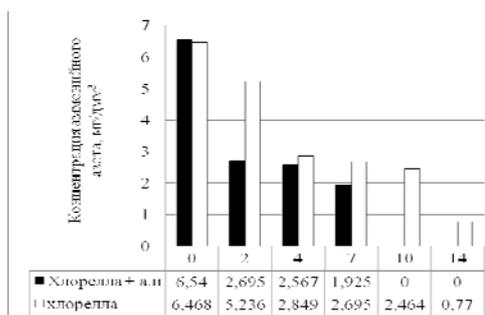


Рис. 1 – Сравнительное изменение концентрации аммонийного азота в сточных водах при культивировании хлореллы отдельно и совместно с активным илом

Отмечено, что в процессе культивирования хлореллы наблюдается более быстрое снижение концентрации азота нитритов, чем в условиях совместного культивирования хлореллы и активного ила. Так, при отдельном культивировании хлореллы эффективность удаления азота нитритов составляла более 97 %, в то время как при совместном культивировании не превышала 58 %. Следует предположить, что в последнем случае в процессе очистки активно протекает первая стадия нитрификации, проводящая к увеличению концентрации азота нитритов. Таким образом, выявлено, что аммонийокисляющие бактерии способствуют накоплению азота нитритов в количестве от 19 % до 40 %, в среднем 30 % от его начального содержания в модельном растворе сточной воды.

Далее, экспериментально было показано, что отдельное культивирование хлореллы обеспечивает также большую эффективность удаления азота нитратов (56 %), чем совместное культивирование хлореллы и активного ила (47 %), что связано с протеканием в последнем случае второй фазы нитрификации - окисления нитритов в нитраты, приводящим, соответственно, к увеличению концентрации азота нитратов (рис.2).

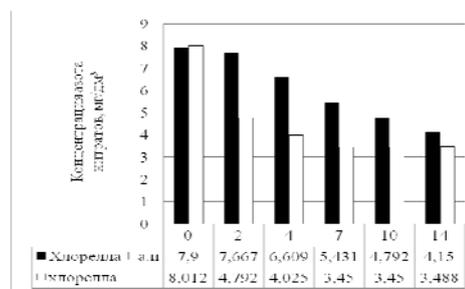


Рис. 2 – Сравнительное изменение концентрации азота нитратов в сточных водах при культивировании хлореллы отдельно и совместно с активным илом

Анализ эффективности удаления биогенных веществ из воды при совместном культивировании микроорганизмов активного ила и элодеи

Приведенные на рис. 3 данные показывают, что в процессе очистки воды с совместным использованием высших водных растений и активного ила наблюдалось быстрое снижение концентрации аммонийного азота. В течение первых 10 суток из среды удалялся практически весь аммонийный азот, т.е. около 6,5 мг/дм³. При этом вклад нитрифицирующих бактерий в процесс совместного удаления аммонийного азота элодеей и бактериями составлял от 14 % до 49 %, в среднем - 31,5 %.

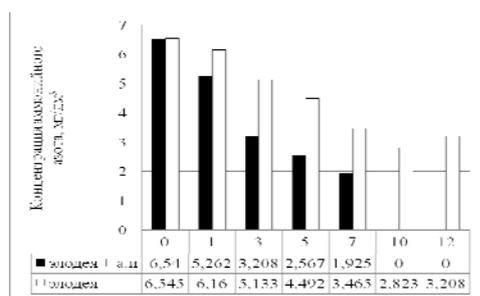


Рис. 3 – Сравнительное изменение концентрации аммонийного азота в сточных водах при культивировании элодеи отдельно и совместно с активным илом

При отдельном культивировании элодеи эффективность удаления аммонийного азота на 10-е сутки не превышала 57 %. Кроме того, на 12-е сутки отмечено увеличение концентрации аммонийного азота, вероятно, связанное с гибелью части растений.

В процессе экспериментальных исследований выявлено, что в процессе совместного культивирования микроорганизмов активного ила с элодеей эффективность удаления азота нитритов достигала 99 %, что в 3 раза выше эффективности удаления азота нитритов при отдельном культивировании элодеи. Совместное культивирование способствует быстрому снижению концентрации азота нитритов благодаря протеканию в системе доочистки двух однонаправленных процессов: активного биоокисления нитритов соответствующей группой микроорганизмов активного ила, а также поглощения и потребления азота нитритов элодеей.

В данном случае вклад нитрифицирующих бактерий в процесс совместного удаления азота нитритов элодеей и бактериями составляет от 32 % до 65 %, в среднем 52 %.

Экспериментальные данные (рис.4) показывают, что наибольшее количество азота нитратов водные растения выводят на 7-е сутки, эффективность при этом достигала 64,3 %. При этом концентрация азота нитратов уменьшалась с 8,1 мг/дм³ до 2,9 мг/дм³. На 10-е и 12-е сутки увеличивалась концентрация азота нитратов, что может быть связано с гибелью части растений, так

как в сточных водах без микроорганизмов отмечается недостаток углекислого газа.

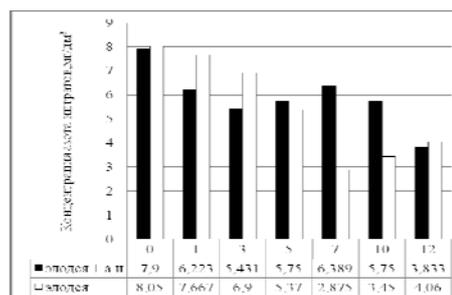


Рис. 4 – Сравнительное изменение концентрации азота нитратов в сточных водах при культивировании элодеи отдельно и совместно с активным илом

При совместном культивировании элодеи с активным илом активно протекает вторая фаза нитрификации, что приводит к увеличению концентрации азота нитратов на 7-е и 10-е сутки.

Оценка акклиматизации водных растений к экспериментальным условиям

Оценка акклиматизации хлореллы

Результаты экспериментальных исследований позволяют сделать вывод, что при совместном культивировании с микроорганизмами активного ила хлорелла увеличивала численность клеток в популяции: в течение 14 суток культивирования наблюдается прирост с $0,66 \times 10^6$ до $24,9 \times 10^6$ клеток/мл. При отдельном культивировании хлореллы наблюдается прирост с $0,66 \times 10^6$ до $14,47 \times 10^6$ клеток/мл, что в 1,7 раз меньше чем, при совместном культивировании хлореллы. Это подтверждает данные, имеющиеся в литературе [10] о способности бактерий стимулировать рост одноклеточных микроводорослей. Бактерии способны оказывать влияние на многие параметры роста одноклеточных микроводорослей хлореллы [11], а также изменять цитологию, продуктивность липидов и пигментов микроводорослей [12-14].

Оценка акклиматизации элодеи

Результаты измерения влажного веса макрофитов и длины их стеблей в условиях культивирования по завершении эксперимента приведены в табл. 2.

Таблица 2 - Конечные характеристики образцов элодеи при отдельном и совместном с активным илом культивировании

Образцы элодеи	1	2	3
отдельное культивирование			
Длина, см	31,80	24,5	45,8
Масса, г	1,17	0,91	2,7
Общая фитомасса, г	4,787		
совместное культивирование			
Длина, см	33,00	31,50	32,00
Масса, г	1,941	2,168	2,217
Общая фитомасса, г	6,326		

Из данных табл.1 и табл.2 видно, что при совместном культивировании элодеи с активным илом, биомасса элодеи растет быстрее, чем в условиях отдельного культивирования.

Длина стеблей образцов элодеи увеличилась в среднем на 16 %, что в 3 раза больше, чем при отдельном культивировании, а их фитомасса увеличилась в среднем на 31,6 %, что в 2 раза больше, чем при отдельном культивировании.

Заключение

В данной работе проанализирована роль одноклеточных и многоклеточных водорослей, а также микроорганизмов в процессе доочистки сточной воды, прошедшей предварительную биологическую очистку от основных биогенных веществ.

Показано, что при совместном культивировании одноклеточных, многоклеточных водорослей и микроорганизмов наблюдается высокая эффективность очистки сточных вод от неорганических соединений азота. Концентрация аммонийного азота снижалась последовательно с достижением практически 100 % эффективности, что свидетельствует о стабильности биологической утилизации аммонийного азота в системе с одноклеточными и многоклеточными водорослями совместно с микроорганизмами активного ила. В данном случае вклад нитрифицирующих бактерий в процесс совместного удаления аммонийного азота хлореллой и бактериями составлял от 4,4 % до 39 %, в среднем 21 %, а также элодеи и бактериями - от 13,8 % до 49,0 %, в среднем 31,5 %.

Эффективность снижения концентрации азота нитритов может достигать практически 100 % при отдельном культивировании хлореллы, а также при совместном культивировании элодеи с микроорганизмами. Вклад нитрифицирующих бактерий в процесс совместного удаления азота нитритов элодеи и бактериями составляет от 31,7 % до 65,3 %, в среднем 52,4 %.

Однако в ходе исследований также отмечалось увеличение концентрации азота нитритов и азота нитратов вследствие протекания процесса нитрификации.

Оценка акклиматизации водных растений к условиям эксперимента свидетельствует об их высокой адаптации при совместном культивировании с микроорганизмами. Гибель части растений в процессе исследований свидетельствует о невысокой акклиматизации элодеи при её отдельном культивировании в системе доочистки сточных вод.

Показано, что при совместном культивировании количество биомассы хлореллы в 1,7 раз больше, чем при отдельном культивировании, что определено способностью бактерий стимулировать рост одноклеточных микроводорослей.

Литература

1. С.С. Тимофеева, О.М. Кожова, Водн. ресурсы, 5, 84-91 (1985).
2. Т.Г. Храмцова, Д.И. Стом, В.А. Выгода, Проблемы экологии. Чтения памяти проф. М.М. Кожова, 2, 260-262 (1995).
3. L. Wendt-Rasch, P. Pirzadeh, P. Woin, *Aquat Toxicol.*, 63, 3, 243-256 (2003).
4. С.С. Тимофеева, В.З. Беспалова, Водные ресурсы, 6, 103-107 (1988).
5. С.С. Тимофеева, В.З. Краева, Э.А.Толоса, В.В. Великодворская, *Физиол. Растений*, 31, 3, 462-468 (1984).
6. С.С. Тимофеева, В.З. Краева, О.А. Меньшикова, *Водные ресурсы*, 6, 111-118 (1985).
7. О.М. Кожова, С.С. Тимофеева. *Водн. ресурсы*, 1, 177-178 (1986).
8. B. Gao, L. Yang, X. Wang, J. Zhao, G. Sheng, *Chemosphere*, 41, 419-426 (2000).
9. Е.Н. Семенова, А.С. Сироткин, *Вестник Казанского технологического университета*, 1, 42-52 (2008).
10. R.G. Wetzel, W.B. Saunders, *Limnology*. Philadelphia, 1975. 743 p.
11. L.E. de-Bashan, J.-P. Hernandez, T. Morey, *Wat. Res.*, 38, 466-474 (2004).
12. L.E. Gonzalez, Y. Bashan, *Appl Environ Microbiol.*, 6, 1537-1541 (2000).
13. L.E. De-Bashan, Y. Bashan, M. Moreno, V.K. Lebsky, J.J. Bustillos, *Can J Microbiol.*, 48, 514-521 (2002).
14. L.E. Gonzalez-Bashan, V. Lebsky, J.P. Hernandez, J.J. Bustillos, Y. Bashan, *Can J Microbiol.*, 46, 653-659 (2000).

© Т. В. Кирилина – канд. техн. наук, асс. каф. промышленной биотехнологии КНИТУ, tvkirilina@gmail.com; До Тхи Тху Ханг – магистр КНИТУ; А. С. Сироткин – д-р техн. наук, проф., зав. каф. промышленной биотехнологии КНИТУ, asirotkin@mail333.com.