

Охрана окружающей среды

УДК 628.315

Сапура Е.В.¹, Демчина В.П.²

¹ Институт коллоидной химии и химии воды НАН Украины, Киев

² Институт газа НАН Украины, Киев

Эколого-мониторинговое исследование ANAMMOX-процесса в природных и искусственных экосистемах Украины

Обнаружено наличие ANAMMOX-процесса (анаэробного окисления аммония) в аэротенках очистных сооружений Украины с помощью опытов с иммобилизацией на волокнистых носителях типа ВИЯ микроорганизмов активного ила. Рассмотрены преимущества применения ANAMMOX-процесса для очистки сточных вод от аммонийного азота по сравнению с традиционными биологическими методами борьбы с этим загрязняющим веществом.

Ключевые слова: ANAMMOX (анаэробное окисление аммония), аммонийный азот, нитрификация, денитрификация, сточные воды, носители ВИЯ.

Виявлено ANAMMOX-процес (анаеробне окислення амонію) в аеротенках очисних споруд України за допомогою дослідів з іммобілізацією на волокнистих носіях типу ВИЯ мікроорганізмів активного мулу. Розглянуто переваги застосування ANAMMOX-процесу для очищення стічних вод від амонійного азоту порівняно з традиційними біологічними методами боротьби з цією забруднюючою речовиною.

Ключові слова: ANAMMOX (анаеробне окислення амонію), амонійний азот, нітрифікація, денітрифікація, стічні води, носії ВИЯ.

В бытовые, промышленные, сельскохозяйственные сточные воды входят органические и неорганические азотсодержащие соединения, которые, как и соединения фосфора, являются биогенными веществами, при повышении концентрации которых в водоемах усиливается эвтрофикация [1]. Загрязнение воды биогенными веществами, в частности, аммонийным азотом приводит к тому, что поверхностные водоемы становятся полностью непригодными для дальнейшего использования в качестве источников водоснабжения.

В настоящее время от такого биологически опасного загрязнения, как аммонийный азот, из-

бавляются классическими биотехнологическими методами, в основе которых лежат микробные процессы нитрификации и денитрификации.

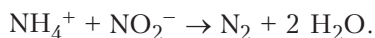
Нитрификация состоит из двух стадий: нитритации (окисление аммония до нитрита) и нитратации (окисление нитрита до нитрата). Первая стадия осуществляется строго аэробными автотрофными бактериями родов *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*; вторая стадия происходит под воздействием тоже аэробных автотрофов родов *Nitrobacter*, *Nitrocystis* [2].

Процесс денитрификации (восстановления нитратов до молекулярного азота) происходит вследствие деятельности денитрифицирующих

бактерий — гетеротрофных факультативных анаэробов, использующих в основном и кислород, и нитраты в качестве акцепторов электронов.

Традиционная нитри-денитрификация требует интенсивной аэрации на первой стадии для окисления аммония до нитрата (4,57 г O₂ на 1 г N) и значительного количества органических веществ (около 4 г ХПК на 1 г N) на второй стадии для обеспечения восстановления нитрата до молекулярного азота [3]. Эти процессы требуют отдельных биореакторов со своими отстойниками и, кроме того, приводят к существенному приросту избыточной биомассы, которую нужно определенным образом утилизировать. Все это влечет за собой серьезные экологические и энергетические затраты.

В конце 1970-х гг. австрийским биофизиком Энгельбертом Бродой была предсказана вероятность существования бактерий, которые вызывают процесс анаэробного окисления аммония [4]. Этот процесс был выявлен почти 20 лет спустя в пилотной денитрификационной установке Гист-Брокадес (г. Дельфт, Нидерланды) и назван ANAMMOX (*Anaerobic Ammonium Oxidation*) [5]. В этом биологическом процессе нитриты и аммонийный азот преобразуются в молекулярный азот; 24–67 % молекулярного азота, вырабатываемого в мировом океане, приходится именно на ANAMMOX-процесс [6]. Общее уравнение реакций анаэробного окисления аммония:



ANAMMOX-микроорганизмы — это хемолитоавтотрофные бактерии, принадлежащие к семейству планктомицетов и получившие название *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*, *C. Brocadia anammoxidans*, *C. Scalindua sorokinii*, *C. Anammoxoglobus propionicus* и др. [5].

В мире существуют эффективные технологии очистки сточных вод от аммония, которые базируются на использовании ANAMMOX-бактерий [7–9].

Цель настоящей работы — обнаружение ANAMMOX-процесса в аэротенках очистных сооружений Украины.

Учитывая то, что ANAMMOX-бактерии очень хорошо способны образовывать биопленки, а также иммобилизоваться на стенках биореакторов [10], мы решили получить накопительную культуру этих бактерий из активного ила биологических очистных сооружений, используя при этом специальные носители, изготовленные из капронового текстурированного жгутового волокна ВИЯ. Иммобилизацию на волокнистых носителях осуществляли с помо-

щью устройства, каркас которого изготовлен из поливинилхлоридных труб (рисунок).



Устройство для иммобилизации ANAMMOX-бактерий.

Носители ВИЯ закреплены таким образом, чтобы внутри устройства были благоприятные условия для массообмена. Эти устройства погружали в аэротенки очистных сооружений на 20 сут, после чего микробную биопленку, иммобилизованную на ВИЯ, переносили в ПЭТ-бутылки емкостью 0,5 и 6 дм³ с селективной питательной средой следующего состава (в мг/дм³ отстоянной водопроводной воды): NH₄Cl — 150; NaNO₂ — 150; NaHCO₃ — 1000; KH₂PO₄ — 450; K₂HPO₄ — 500. ПЭТ-бутылку, заполненную на 4/5 объема питательной средой с иммобилизованной на носителе ВИЯ биомассой активированного ила, сжимали с двух сторон до полного удаления из нее воздуха, плотно закрывали пробкой и помещали в термостат при температуре 32 ± 0,5 °С. Опыты повторяли 7–10 раз.

Для контроля служили такие же ПЭТ-бутылки с соответствующими иммобилизованными гидробионтами и питательной средой, но без NH₄Cl, без NaNO₂, без NH₄Cl и NaNO₂. Ставили также контрольные опыты с полной селективной питательной средой и носителем ВИЯ, который не был в контакте с активированным илом. Следили за интенсивностью образования биогаза в ПЭТ-бутылках и проводили газохроматографический анализ выделившегося газа.

Анализ проб биогаза проводили на газовом хроматографе 6890 N фирмы Agilent в Институте газа НАН Украины. Условия анализа: детектор — катарометр, температура детектора — 200 °С, газ-носитель — аргон. Анализ легких газов проводили на колонке MOLSIV длиной 15 м, углеводов — на колонке PLOTQ длиной 15 м. Образцы газа вводили непосредственно в дозатор хроматографа. В результате проведения исследования разработан и запатен-

тован новый способ определения интенсивности биохимического процесса, который характеризуется простотой, компактностью и возможностью применения в полевых условиях [11, 12].

Исследование содержания ANAMMOX-бактерий проводили в активном иле очистных сооружений Украины: I — Бортнической станции аэрации, г. Киев; биологических очистных сооружений (БОС): II — в г. Чернигове; III — в г. Черкассы; IV — Киевского картонного комбината (г. Обухов, Киевская обл.); V — в пгт Новый Свет Донецкой обл.; VI — Мариупольского коксохимического комбината.

Во время проведения опытов наблюдали за выделением газов в бутылках-биореакторах. В табл.1 приведены средние результаты экспериментов в пяти повторностях.

Таблица 1. Количество газа (см³), образовавшегося в биореакторах на протяжении 5 сут исследования в разных питательных средах

Место отбора проб (аэротенки)	Полная (селективная)	Без NH ₄ Cl	Без NaNO ₂	Без NH ₄ Cl и NaNO ₂
I	105	50	10	10
II	102	45	9	10
III	95	40	7	9
IV	95	47	9	8
V	90	42	5	9
VI	100	49	8	7

Полученные данные количественного анализа газообразных продуктов свидетельствуют о том, что во всех опытах с полной питательной средой протекал ANAMMOX-процесс. В контрольных бутылках при отсутствии в среде NaNO₂ и отсутствии NH₄Cl и NaNO₂ газообразные продукты почти не выделялись (за 3 дня менее 10 см³), то есть ANAMMOX-процесс там не осуществлялся. В бутылках-биореакторах, содержащих контрольную питательную среду без NH₄Cl, но при наличии NaNO₂ проходил ANAMMOX-процесс, но менее интенсивно, чем с полной питательной средой. Это объясняется тем, что органические белковые вещества, содержащиеся в большом количестве в активном иле, которые прикрепились к ВИЯ во время инкубации в аэротенке, в анаэробных условиях подвергаются процессу гниения (амонификации), что приводит к появлению аммония в исследуемых бутылках и, следовательно, к протеканию ANAMMOX-процесса, так как в среде присутствует нитрит-ион. В биореакторах, содержащих полную питательную среду и носители ВИЯ, которые не были в контакте с активными илами, газ не выделялся вообще.

Таблица 2. Результаты анализа газообразных продуктов (% (об.)), образующихся при прохождении ANAMMOX-процесса

Компоненты	Опыт № 1	Опыт № 2	Опыт № 3
N ₂	75,13	93,62	92,34
CH ₄	12,96	3,58	3,10
CO ₂	10,92	1,49	3,63
C ₂ H ₄	0	0,07	0
H ₂ O	0,99	1,24	0,93
Суммарное количество	100	100	100

Для проверки качественного состава биогаза в ПЭТ-бутылки общей емкостью 6 дм³ помещали по 500 г носителей ВИЯ, предварительно выдержанных в аэротенках станций биологической очистки сточных вод в течение 20 сут, заливали по 5,5 дм³ селективной питательной среды приведенного выше состава, создавали анаэробные условия, навинчивали пластмассовую пробку с отверстием, в которое была вставлена резиновая трубка; конец последней был погружен в сосуд с водой, где была размещена заполненная водой ПЭТ-бутылка объемом 2 дм³ для сбора газообразных продуктов. Создавали соответствующие температурные условия (27 ± 0,5 °C). Через 5 дней собирали образовавшийся биогаз и анализировали его с помощью газового хроматографа. Опыт проводили в тройной повторности на разных объектах (табл.2): Черниговской станции очистки коммунальных сточных вод (опыт № 1), Бортнической станции аэрации (первая очередь — № 2, третья очередь — № 3).

Выводы

В результате проведенного исследования в биологических очистных сооружениях Украины обнаружены ANAMMOX-бактерии, которые способны к иммобилизации на волокнистых носителях типа ВИЯ. Разработан новый способ определения интенсивности прохождения ANAMMOX-процесса с использованием ПЭТ-бутылок, который характеризуется простотой, компактностью и возможностью применения в полевых условиях. Проведено исследование газообразных продуктов, выделившихся в результате ANAMMOX-процесса. Установлено, что более 90 % образовавшегося газа является молекулярным азотом.

Список литературы

1. Романенко В.Д. Основы гідроекології. — Київ : Обереги, 2001. — 728 с.
2. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія. — Київ : Нац. ун-т харч. технологій, 2004. — 470 с.

3. Михайловська М.В., Гвоздяк П.І. Порівняльний аналіз біологічного очищення стічних вод від сполук азоту // Наук. вісті НТУУ «КПІ». — 2007. — № 2. — С. 109–117.
4. Broda E. Two kinds of lithotrophs missing in nature // Z. Allg. Mikrobiol. — 1977. — № 6. — P. 491–493.
5. Kuenen J. G. Anammox bacteria : from discovery to application. Nature Reviews // Microbiology. — 2008. — Vol. 6. — P. 320–326.
6. Arrigo K.R. Marine microorganisms and global nutrient cycles // Nature. — 2005. — Vol. 437, № 15. — P. 349–355.
7. Jetten M.S.M., Strous M., van de Pas-Schoonen K.T. The anaerobic oxidation of ammonium // FEMS Microbiol. Rev. — 1999. — № 22. — P. 421–437.
8. Van der Star W.R.I., Abma W.R., Blommers D. et al. Startup of reaction for anoxic ammonium oxidation : Experiences from the first full-scale Anammox reactor in Rotterdam // Water Res. — 2007. — № 41. — P. 4149–4163.
9. Михайловская М.В. АНАМОКС — как метод удаления соединений азота из сточных вод и перспективы его применения в Украине // Химия и технология воды. — 2008. — Т. 30, № 6. — С. 675–683.
10. Данилович Д.А., Козлов М. Н., Мойжес О.В. и др. Анаэробное окисление аммония для удаления азота из высококонцентрированных сточных вод // Водоснабжение и сан. техника. — 2010. — № 4. — С. 49–54.
11. Гвоздяк П.І., Сапура О.В. Простий метод виявлення та оцінки інтенсивності анаеробних процесів, що супроводжуються виділенням газів // Мікробіологія і біотехнологія. — 2009. — № 8. — С. 53–57.
12. Пат. 92938 Укр., МПК⁸ G 01 N 7/00. Спосіб визначення інтенсивності біохімічного процесу / П.І.Гвоздяк, Л.І.Глоба, О.В.Сапура. — Опубл. 27.12.10, Бюл. № 24.

Поступила в редакцію 20.07.12

Sapura E.V.¹, Demchyra V.P.²

¹ *Institute of Colloid and Water Chemistry of NASU, Kiev*

² *The Gas Institute of NASU, Kiev*

Ecological Monitoring Investigation of ANAMMOX-Process in Natural and Artificial Ecosystems of Ukraine

The presence of ANAMMOX-process (anaerobic ammonium oxidation) in aerotanks of purifying constructions of Ukraine by means of tests with active silt microorganisms immobilization on fibrous carriers of VIYA-type is discovered. The advantages of ANAMMOX-process application for waste waters treatment from ammonium nitrogen in comparison with traditional biological methods for this polluting substance inhibition are considered.

Key words: ANAMMOX (anaerobic ammonium oxidation), ammonium nitrogen, nitrification, denitrification, VIYA carriers.

Received July 20, 12