

УДК 661.183.2 : 66.098.2+544.723.2

Е.А. Корж¹, Н.А. Клименко¹, С.К. Смолин¹, Л.Р. Решетняк²

БИОСОРБЦИЯ ПРОКАИНА НА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОМ УГЛЕ

¹ Институт коллоидной химии и химии воды
им. А.В. Думанского НАН Украины, г. Киев;

² Национальный авиационный университет, г. Киев
adsl14@rambler.ru

Изучена динамика биосорбционной очистки воды от прокаина адаптированной биомассой активного ила, иммобилизованного на активном угле. Наибольшая константа скорости биодеструкции прокаина ($0,151 \text{ ч}^{-1}$) суспендированной адаптированной биомассой наблюдается при концентрации вещества 100 мг/дм^3 . При биосорбционном извлечении прокаина на активном угле в условиях перемешивания константы скорости биодеструкции возрастают в два – пять раз по сравнению с суспендированной биомассой. Адаптированная биопленка заметно продлевает срок службы слоя угля по сравнению со стихийно формирующейся биопленкой за счет более высокой деструктивной активности.

Ключевые слова: активный уголь, адаптированная биомасса, адсорбционные колонки, биосорбция, биодеструкция, биопленка, прокаин.

Введение. Прокаин – один из широко используемых местных анестетиков. При его гидролизе образуются *n*-аминобензойная кислота (ПАБК) и диэтиламиноэтанол. Для человеческого организма большое количество ПАБК может вызвать повреждение печени [1]. Поэтому фактически полное его удаление из водных растворов является актуальной задачей.

При очистке вод от таких загрязняющих веществ, как ПАВ [2], хлор- и нитропроизводные фенолов [3], красители [4], фармацевтические вещества, широко используют биосорбционные методы [5, 6]. Немалую роль при этом играют микроорганизмы, образующие

© Е.А. Корж, Н.А. Клименко, С.К. Смолин, Л.Р. Решетняк, 2016

био пленку на поверхности активного угля (АУ). За счет процессов биорегенерации они способны продлевать срок службы адсорбционного фильтра в несколько раз без снижения качества очищенной воды [2].

Кинетика биосорбционного извлечения загрязняющих веществ является одной из важных характеристик, необходимых для технологических расчетов параметров биосорберов. Немалую роль в этом процессе играет биоразлагаемость загрязняющего вещества – скорость его деструкции и поглощения микроорганизмами. Одним из методов повышения деструктивной активности микроорганизмов является предварительная адаптация культуры к деструкции целевого вещества [4].

Некоторые штаммы микроорганизмов, имеющих фермент карбоксилэстеразу (атропинэстераза в печени человека [7]), способны подвергать прокаин биодеструкции и использовать образующуюся ПАБК в качестве фактора роста [1]. Поэтому практический интерес представляет поиск комплекса устойчивых микроорганизмов, адаптированных к биодеструкции прокаина, и их использование в биосорбционной очистке вод.

Цель данной работы – определение влияния адаптированной биомассы на эффективность биосорбционного удаления прокаина из воды. В задачи исследования входило изучение колоний адаптированных микроорганизмов, определение кинетики биодеструкции прокаина суспендированной биомассой и кинетики биосорбции прокаина адаптированной био пленкой на косточковом активном угле (КАУ), а также исследование динамики биосорбционного фильтрования прокаина в колонках с загрузками КАУ при наличии и отсутствии адаптированной биомассы.

Методика эксперимента. Для получения адаптированной к деструкции прокаина биомассы использовали методику [4]. Консорциум микроорганизмов активного ила с биологических водоочистных сооружений помещали в питательную среду (на основе дистиллированной воды), содержащую 0,05 г/дм³ нитрата аммония, 0,012 г/дм³ дигидроортофосфата калия, 0,012 г/дм³ сульфата магния 7-водного, 0,005 г/ дм³ хлорида натрия, 0,0012 г/дм³ хлорида кальция и 0,1 г/дм³ сахарозы, и культивировали в аэробных условиях в термостате при 25°С. Раз в неделю раствор заменяли, отделяя суспендированную биомассу отстаиванием и декантацией. В течение одного месяца концентрацию

сахарозы в растворе постепенно снижали, а прокаина — повышали до $0,1 \text{ г/дм}^3$. Полноту деструкции рассчитывали по изменению концентрации прокаина, определяемой на спектрофотометре Shimadzu UV-2450 при $\gamma = 289 \text{ нм}$; рН раствора поддерживали на уровне 7 ± 1 . Рост биомассы фиксировали по повышению концентрации взвешенных веществ и мутности раствора. Посев адаптированной биомассы в чашках Петри проводили на плотных средах — мясо-пептонном агаре (МПА) и селективной среде Сабуро. В среды для культивирования микроорганизмов вносили прокаин с концентрацией $0,1 \text{ г/дм}^3$. Культивировали в термостате при 37°C в течение 24 ч для МПА и при 28°C в течение 72 ч для среды Сабуро [8].

Кинетику биодеструкции прокаина исследовали методом ограниченного объема. В колбу объемом 300 см^3 помещали 10 см^3 концентрированного раствора солей питательной среды, требуемый объем раствора с концентрацией прокаина 500 мг/дм^3 , доводили раствор дистиллированной водой до 150 см^3 и добавляли 50 см^3 суспензии биомассы. Колбу помещали на качалку Biosan OS-20 с частотой вращения $\nu = 150 \text{ об/мин}$. Пробы с аликвотным объемом 10 см^3 отбирали минимум два раза в одни сутки. При исследовании кинетики биосорбции в систему дополнительно вносили соответствующую навеску АУ фракции $0,5 - 2 \text{ мм}$.

При изучении динамики извлечения прокаина из раствора в адсорбционные колонки КАУ-1 и КАУ-2 вносили по 100 см^3 ($53,819 \text{ г}$) сорбента КАУ и помещали на капельный стенд. В колонку КАУ-2 дополнительно вносили адаптированную биомассу, медленно (троекратно) пропуская 200 см^3 суспензии биомассы сквозь фильтрующую колонку. Фильтрацию осуществляли в нестерильных условиях; капельный режим выбирали исходя из параметров установки; пропускную способность колонок поддерживали на уровне $4,8 \text{ дм}^3/\text{сут}$. Концентрация входящего раствора прокаина на водопроводной воде составляла $\sim 20 \text{ мг/дм}^3$. Отбор проб для измерения концентрации прокаина проводили в трех точках: на входе, на уровне середины фильтрующего слоя и на выходе.

В процессе исследования биодеструкции прокаина адаптированной биомассой контролировали параметры среды: рН и содержание определяли на иономере Nach SensIon 156, мутность раствора и концентрацию взвешенных веществ — на колориметре Nach DR-850, содержание кислорода — на оксиметре Nach HQ 14D. Для предотвра-

щения влияния внешних факторов на результаты все эксперименты проводили одновременно.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследований биомасса активного ила была адаптирована к деструкции прокаина (0,1 г/дм³). На рис. 1 представлены колонии адаптированных микроорганизмов-биодеструкторов, культивированных на МПА и среде Сабуро.

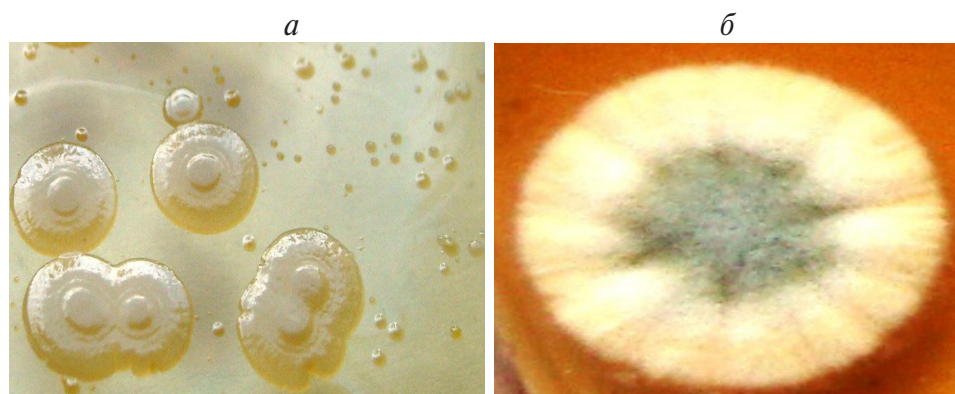


Рис. 1. Колонии адаптированных к деструкции прокаина микроорганизмов на мясо-пептонный агаре (а) и среде Сабуро (б).

Морфологическое описание фенотипа поверхностных колоний микроорганизмов, согласно общей классификации [8], приведено в табл. 1.

Таблица 1. Морфологическая характеристика поверхностных колоний

Характеристика	МПА	Сабуро
Форма	Округлая	Округлая, с фестончатым краем
Диаметр, мм	3 – 5	10 – 15
Поверхность	Гладкая	Складчатая
Профиль	Выпуклый	Бугристый
Блеск и прозрачность	Матовая	Матовая
Цвет	Желтоватый	Серовато-белый
Край	Ровный	Волнистый

Установлено, что адаптированная биомасса представляет собой аэробный консорциум микроорганизмов-биодеструкторов, в котором предположительно бактерии осуществляют первичный гидролиз про-

каина, а грибы в качестве субстрата используют продукты их жизнедеятельности.

Деструкция прокаина происходит путем ферментативного гидролиза до ПАБК и диэтиламиноэтанола [9]. По всей видимости, ПАБК подвергается дальнейшей деструкции, поскольку в УФ-спектре отсутствует ее пик поглощения [10].

Полученные данные по деструктивной активности адаптированной биомассы по прокаину представлены на рис. 2.

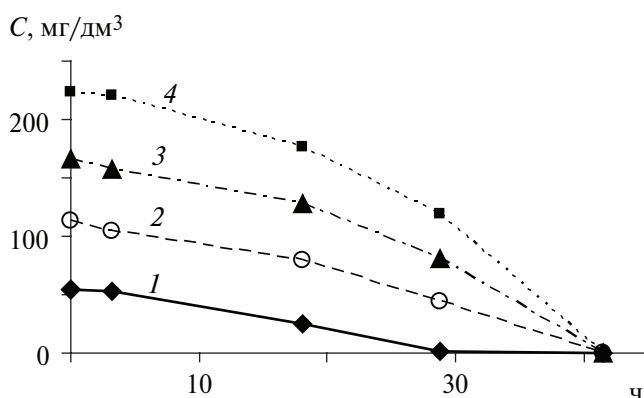


Рис. 2. Кинетические закономерности биодеструкции прокаина адаптированной биомассой с начальной концентрацией вещества в растворе: 55 (1), 110 (2), 165 (3) и 220 мг/дм³ (4).

Для анализа кривых и расчета коэффициентов биодеструкции прокаина (см. табл. 2) использовали кинетическое уравнение первого порядка [11]

$$\frac{dC}{dt} = k_{bio}(t)C_0, \quad (1)$$

где $k_{bio}(t) = a_{bio} * t + b_{bio}$ – линейные функции времени биодеструкции, коэффициент b_{bio} соответствует скорости деструкции (1/время), а коэффициент a_{bio} – ускорению (1/время²).

Поскольку биомасса микроорганизмов-биодеструкторов адаптирована к концентрации прокаина в растворе, составляющей 0,1 г/дм³, то наибольшая константа скорости полураспада прокаина соответствует этой концентрации. При более высокой начальной концентрации субстрата активность биомассы ингибируется его избытком, а

при более низкой – недостатком. При этом степень разложения прокаи́на из раствора для всех исследованных случаев по истечении 42 ч составила не менее 99,7%. Таким образом, в ограниченном объеме биодеструкция прокаи́на адаптированной биомассой микроорганизмов оказалась достаточно эффективной.

Таблица 2. Константы скорости биодеструкции прокаи́на адаптированной биомассой

Параметр	C_0 , мг/дм ³			
	55	110	165	220
a_{bio} , ч ⁻²	0,0057	0,0011	0,0008	0,0008
b_{bio} , ч ⁻¹	0,0220	0,1459	0,0123	0,0094
$k_{bio/2}$, ч ⁻¹	0,089	0,151	0,035	0,035

Примечание. $k_{bio/2}$ – константа скорости биодеструкции прокаи́на в момент снижения половины его исходной концентрации.

Параллельно с биодеструкцией прокаи́на были изучены условия протекания данного процесса и изменения показателей адаптированной биомассы. Одним из показателей роста суспендированной биомассы является повышение концентрации взвешенных частиц ($C_{в.в.}$) и мутности раствора (М) (рис. 3, а, б).

При повышении концентрации раствора происходит ускорение роста биомассы, что сопровождается увеличением мутности раствора. Однако высокая концентрация вещества (~ 200 мг/дм³) в начале эксперимента ингибирует развитие микрофлоры, поэтому максимум прироста биомассы достигается позднее.

Для всех концентраций к середине процесса деструкции (18 ч) рН снижается на 0,4 – 0,8, а к концу – наблюдается его рост (на 0,7 – 1,0) (см. рис. 3, в). Для показателя общих растворенных веществ (ОРВ) (см. рис. 3, г) характерен закономерный рост с течением времени, пропорциональный количеству разложенного прокаи́на. Скачок ОРВ (кривая 4, 30 – 40 ч) может служить косвенным признаком повышения деструктивной активности биомассы, а стабильность ОРВ (кривая 1; 30 – 40 ч) – ее снижения. Повышение концентрации прокаи́на в растворе и прирост адаптированной биомассы в целом приводят к снижению содержания кислорода в результате жизнедеятельности микроорганизмов (в диапазоне 8,2 – 6,4 мг/дм³).

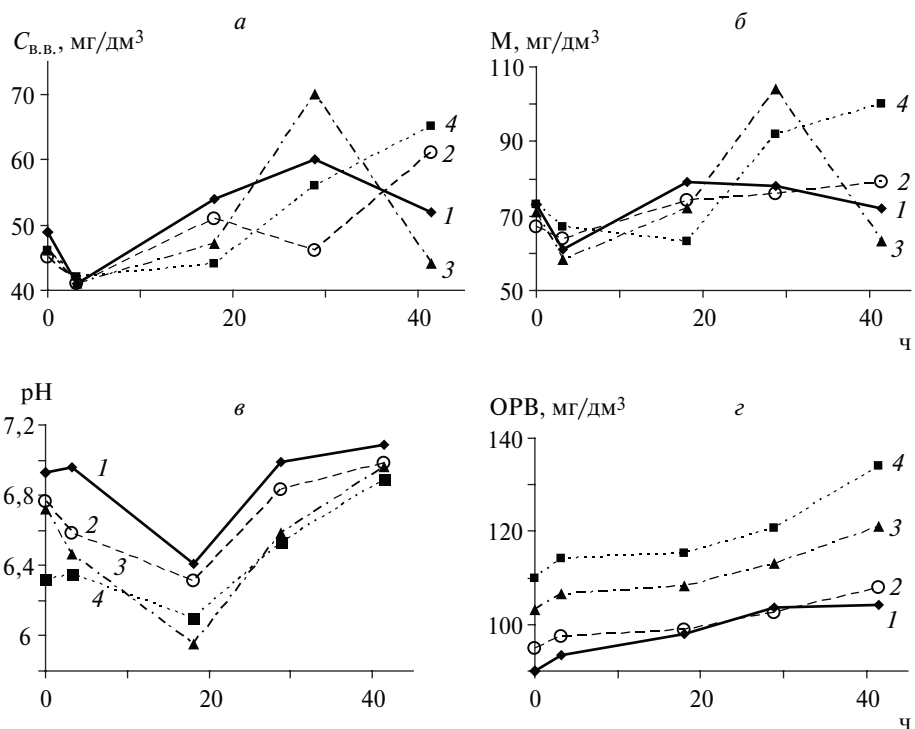


Рис. 3. Изменение концентрации взвешенных частиц (а), мутности (б), pH (в) и содержания кислорода в растворе (г) при биодеструкции прокаина.

Таким образом, рациональными условиями протекания биодеструкции прокаина являются близкая к нейтральной кислотность среды, невысокий показатель ОРВ в растворе и содержание кислорода не ниже 6 мг/дм³.

Известно, что образование биопленки на поверхности АУ заметно повышает устойчивость микроорганизмов к неблагоприятному воздействию высоких концентраций загрязняющих веществ [5]. Были исследованы кинетические закономерности биосорбционного удаления из раствора прокаина в повышенных концентрациях адаптированной биомассой на КАУ (рис. 4).

На рис. 4, а пунктирными линиями показаны расчетные кинетические кривые адсорбции прокаина на КАУ в отсутствие биомассы. Часть свободного адсорбционного пространства АУ занимают бактерии, тем самым снижая его адсорбционную емкость, что отражается на начальном этапе процесса.

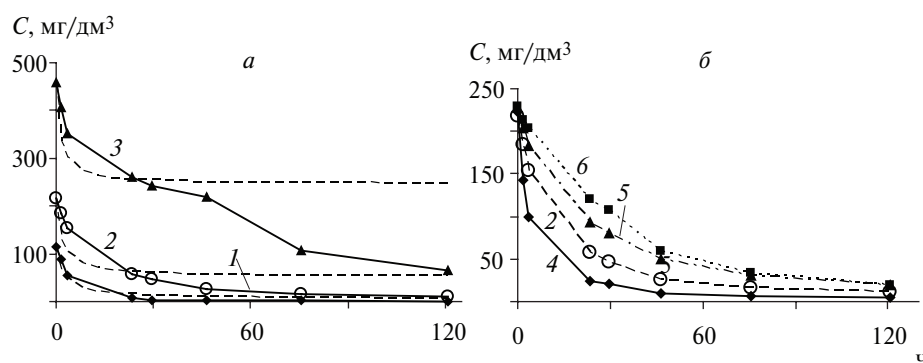


Рис. 4. Закономерности биосорбционного удаления прокаина при постоянной навеске угля 0,1 г (а) и начальной концентрации: 110 (1), 220 (2) и 450 мг/дм³ (3); при постоянной концентрации раствора 220 мг/дм³ (б) и навеске угля: 0,2 (4), 0,1 (2), 0,05 (5) и 0,025 г (6).

При биосорбционном удалении прокаина из замкнутой системы в первые часы наблюдается преобладание сорбционных процессов. Резкое снижение концентрации вещества в растворе обусловлено использованием свободной адсорбционной емкости АУ. Дальнейшее снижение концентрации прокаина происходит за счет деструктивной активности биомассы и отчасти внутридиффузионных адсорбционных процессов. Наиболее четкое разграничение этих стадий прослеживается при начальной концентрации 450 мг/дм³ (см. рис. 4, а, кривая 3). Участок кривой от 0 до 25 ч соответствует действию преимущественно адсорбционных сил, а на участке от 45 до 120 ч наибольший вклад в извлечение прокаина вносит микробиологическая компонента.

При удалении прокаина с различными массами (m) угля (см. рис. 4, б) наблюдается следующая закономерность: чем больше масса, тем быстрее и более полно извлекается вещество из раствора. Однако большая масса угля ингибирует развитие микробной составляющей, поскольку большая часть прокаина адсорбируется в микропорах (~ 0,7 нм). За счет этого снижается его биологическая доступность для микроорганизмов, которым собственные размеры не позволяют проникнуть в эти поры.

Для расчета коэффициентов биосорбции и вклада биодеструкции в биосорбционное извлечение прокаина (табл. 3) использовали следующее кинетическое уравнение первого порядка:

$$\frac{dC}{dt} = k_{bs}(t)C_0. \quad (2)$$

Здесь $k_{bs} = k_{bio} + k_s$, где k_s , k_{bio} , k_{bs} – константы скорости адсорбции, биодеструкции и биосорбции прокаина ($ч^{-1}$).

Таблица 3. Константы скорости биосорбционного удаления прокаина адаптированной биомассой на КАУ

Параметр	Навеска КАУ – 0,1 г		
	110	220	450
C_0 , мг/дм ³	110	220	450
a_{bio}	0,0396	0,0249	0,0158
b_{bio}	0,9527	0,4458	0,1255
$k_{bs1/2}$	1,020	0,585	0,407
k_{bio}/k_{bs} , %	62,5	65,5	66,5
	$C_0 = 220$ мг/дм ³		
Навеска КАУ, г	0,2	0,05	0,025
a_{bio}	0,0304	0,0208	0,0215
b_{bio}	0,9075	0,2500	0,1109
$k_{bs1/2}$	0,952	0,434	0,392
k_{bio}/k_{bs} , %	53,9	76,6	85,8

Параметр k_{bio}/k_{bs} отражает относительный вклад биодеструкции в процесс биосорбционной очистки. Согласно полученным данным с повышением исходной концентрации раствора константа скорости биосорбции в момент удаления половины исходного количества вещества снижается, а при увеличении навески угля – возрастает (табл. 2). Вклад же биодеструкции в процесс биосорбционной очистки при повышении исходной концентрации возрастает, а при увеличении навески угля – уменьшается.

С нашей точки зрения, оптимальная навеска АУ для эффективной работы биопленки в кинетических условиях ограниченного объема составляет ~ 2,5 г угля на 1 г прокаина, при которой половина исходной концентрации адсорбируется к состоянию равновесия, а оставшееся в растворе вещество будет подвергнуто биодеструкции иммобилизованными на поверхности угля микроорганизмами.

Константы скорости биодеструкции прокаина адаптированной биопленкой оказались в несколько раз выше, чем суспендированной биомассой для всех исследованных случаев. Это свидетельствует о несомненном преимуществе биосорбционной очистки перед биофильтрованием на непористых материалах.

Эффективность удаления прокаина из раствора в колонках КАУ-1 и КАУ-2 сохранялась на высоком уровне в течение длительного периода времени (рис. 5).

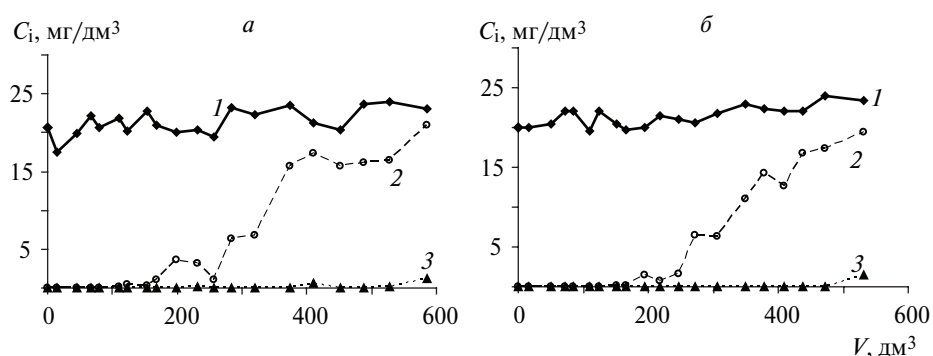


Рис. 5. Динамика биофильтрации растворов сквозь колонки КАУ-1 (а) и КАУ-2 (б): 1 – входная концентрация прокаина; 2 – после первого, (3) – после второго слоя БАУ.

В адсорбционной колонке КАУ-1 проскок концентрации наблюдался при прохождении 410 дм³ раствора, тогда как на КАУ-2 – при 510 дм³. Согласно [12] при проскоковой равновесной концентрации в растворе 0,5 мг/дм³ адсорбционная емкость загрузки КАУ по прокаину составляла 77,2 мг/г. Для колонки КАУ-1 проскок наблюдался после нагрузки 162,7, для КАУ-2 – 211,1 мг/г. Увеличение адсорбционной емкости фильтров в 2,1 и 2,7 раза обусловлено регенерирующим влиянием стихийно формирующейся биомассы в колонке КАУ-1 и адаптированной биомассы в колонке КАУ-2.

Таким образом, использование адаптированной к прокаину биомассы позволяет значительно продлить срок службы адсорбционного фильтра при сохранении требуемой эффективности очистки.

Выводы. Адаптированная к деструкции 0,1 г/дм³ прокаина биомасса в суспендированном виде представляет симбиозный консорциум аэробных бактерий и мицелиальных грибов, способный к эффективному (до 5 мг/дм³ · ч) извлечению прокаина (~ 200 мг/дм³). При обра-

зовании биопленки на поверхности активного угля деструктивная активность биомассы заметно возрастает, что отражается на константах скорости биодеструкции. К тому же ключевое значение имеет соотношение навески угля и концентрации биомассы. При избытке угля ингибируется развитие биомассы за счет уменьшения биодоступности целевого вещества путем адсорбции его большей части в микропорах. Недостаток угля снижает устойчивость биомассы к перепадам концентраций загрязняющего вещества, поскольку ее большая часть продолжает находиться в суспендированном виде.

Исследования динамики биосорбции свидетельствуют об увеличении адсорбционной емкости фильтра в 2,7 раза в колонке КАУ-2 и в 2,1 раза в колонке КАУ-1 по сравнению с рассчитанной по изотерме адсорбции.

Резюме. Вивчено динаміку біосорбційного очищення води від прокаїну адаптованої біомасою активного мулу, іммобілізованої на активному вугіллі. Найбільша константа швидкості біодеструкції прокаїну суспендованою біомасою спостерігається при концентрації речовини 100 мг/дм³. При біосорбційному вилученні прокаїну на активному вугіллі в умовах перемішування константи швидкості біодеструкції зростають в два – п'ять разів у порівнянні з суспендованою біомасою. Адаптована біоплівка помітно подовжує термін служби шару вугілля у порівнянні з біоплівкою, що формується стихійно, за рахунок більш високої деструктивної активності.

E.O. Korzh, N.A. Klymenko, S.K. Smolin, L.R. Reshetnyak

BIOSORPTION OF PROCAINE ON BIOLOGICALLY ACTIVE CARBON

Summary

Dynamics of biosorptional water purification from procaine by adapted biomass of active sludge immobilized on activated carbon was studied. Maximal rate constant of procaine biodegradation by suspended biomass was observed at 100 mg/dm³ concentration of substance. Biodegradation rate constants of biosorptional extraction of procaine on activated carbon under

stirring increased in 2 – 5 times at compare with suspended biomass. Adapted biofilm noticeably extends lifetime of activated carbon layer at compare with spontaneously emerging biofilm due to higher destructive activity.

Список использованной литературы

- [1] *Mirzaei M., Khayat M., Saeidi A.* // Chemistry and Chemical Eng. – 2012. – **19**, N 3. – P. 561 – 564.
- [2] *Nevynnaya L.V., Klymenko N.A., Sinelnikova A.V.* // Thesis Conf. "Ecol. Chem." (Chisinau, May 20–21, 2005). – Chisinau: Tipografia Academie de Stiinte din., 2005. – P. 115 – 116.
- [3] *Zabneva O.V., Smolin S.K., Shvidenko O.G., Klymenko N.A.* // J. Water Chem. and Technol. – 2014. – **36**, N 2. – P. 97 – 101.
- [4] *Nageswara Rao N., Venkateswarlu N.* // Process Biochem. – 2006. – **41**, N 5. – P. 1097 – 1105.
- [5] *Rattier M., Reungoat J., Keller J., Gernjac W.* // Water Res. – 2014. – **54**. – P. 89 – 99.
- [6] *Alrhoun M., Casellas M., Baudu M., Dagot C.* // Int. J. Chem., Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Eng. – 2014. – **9**, N 1. – P. 43 – 49.
- [7] *Junge W., Krisch K.* // Crit. Rev. Toxicol. – 1975. – **3**. – P. 371 – 434.
- [8] *Петрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М.* Практикум по микробиологии. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
- [9] *Wang D.P.* // Analyst. – 1983. – **108**. – P. 851 – 856.
- [10] *Badea I., Moja D., Vladescu L.* // Anal. Bioanal. Chem. – 2002. – **374**. – P. 51 – 53.
- [11] *Селянинов А.А., Вихарева Е.В.* // Рос. журн. биомеханики. – 2010. – **14**, № 2. – С. 79 – 91.
- [12] *Корж Е.А., Смолин С.К., Клименко Н.А.* // Химия и технология воды. – 2016. – **38**, № 2. – С. 150 – 160.

Поступила в редакцию 21.05.2016 г.