

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**Р. М. МАРКЕВИЧ, И. А. ГРЕБЕНЧИКОВА,
М. В. РЫМОВСКАЯ**

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

*Рекомендовано
учебно-методическим объединением
по химико-технологическому образованию
в качестве учебно-методического пособия
для студентов учреждений высшего образования
по специальности 1-48 02 01 «Биотехнология»
специализации 1-48 02 01 02 «Технология ферментов,
витаминов и продуктов брожения»*

Минск 2019

УДК 573.6+628.54(076.5)(075.8)

ББК 38.761.2я73

М26

Рецензенты:

кафедра общей экологии и методики преподавания биологии
Белорусского государственного университета (доцент кафедры
кандидат биологических наук, доцент *Т. А. Макаревич*);
доцент кафедры экологического мониторинга и менеджмента
учреждения образования «Международный государственный
экологический университет им. А. Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета
кандидат биологических наук *И. А. Ровенская*

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или ее части не может быть осуществлено без разрешения учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет».

Маркевич, Р. М.

М26 Биотехнологическая переработка промышленных отходов. Лабораторный практикум : учеб.-метод. пособие для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» специализации 1-48 02 01 02 «Технология ферментов, витаминов и продуктов брожения» / Р. М. Маркевич, И. А. Гребенчикова, М. В. Рымовская. – Минск : БГТУ, 2019. – 153 с.
ISBN 978-985-530-753-3.

Учебно-методическое пособие включает теоретический материал и лабораторные работы, посвященные изучению и применению биотехнологии в переработке промышленных отходов. В теоретической части каждого раздела представлены сведения о современных направлениях экологической биотехнологии: совершенствовании биологической очистки сточных вод в аэробных и анаэробных условиях, переработке промышленных и растительных отходов (послеспиртовой барды, целлюлозосодержащих отходов) с получением ценных продуктов. Рассмотрены методы получения биоразлагаемых полимерных материалов. Лабораторные работы построены на моделировании производственных процессов переработки и утилизации сточных вод, жидких и твердых сельскохозяйственных и промышленных отходов, включают химические, биохимические и гидробиологические методы контроля производства.

Предназначено для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» специализации 1-48 02 01 02 «Технология ферментов, витаминов и продуктов брожения», также будет полезно магистрантам и аспирантам.

УДК 573.6+628.54(076.5)(075.8)

ББК 38.761.2я73

ISBN 978-985-530-753-3

© УО «Белорусский государственный технологический университет», 2019

© Маркевич Р. М., Гребенчикова И. А.,
Рымовская М. В., 2019

ПРЕДИСЛОВИЕ

Основные направления экологической биотехнологии как науки о специфическом применении методов и средств для решения проблем окружающей среды изложены в учебном пособии «Экологическая биотехнология» авторов Ручай Н. С., Маркевич Р. М. и электронном курсе лекций по дисциплине «Биотехнологическая переработка промышленных отходов» авторов Маркевич Р. М., Гребенчикова И. А., Рымовская М. В.

В лабораторном практикуме получили продолжение основные теоретические положения экологической биотехнологии; представлены современные направления совершенствования биологической очистки сточных вод и переработки отходов, получения биоразлагаемых полимерных материалов, методов определения их биостойкости и др.

Каждая из шести глав практикума содержит теоретическую часть и лабораторную работу, моделирующую конкретный производственный процесс. Особенностью пособия является многовариантность выполнения всех лабораторных работ: использование разного сырья, различных микроорганизмов-продуцентов, варьирование условий осуществления биотехнологических процессов. Такой подход позволяет включать в лабораторный практикум элементы исследований, обеспечивает выполнение лабораторных работ разного уровня сложности.

Учебно-методическое пособие соответствует учебной программе дисциплины «Биотехнологическая переработка промышленных отходов» и предназначено для овладения студентами, обучающимися по специальности 1-48 02 01 «Биотехнология», основными практическими навыками управления производственными процессами, выделения и очистки продуктов, а также методами химического, биохимического и микробиологического контроля биотехнологических процессов.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД В УСЛОВИЯХ АЭРАЦИИ

1.1. Особенности биологической очистки сточных вод. Характеристика активного ила

Биологическая очистка сточных и природных вод основана на использовании содержащихся в них органических и неорганических веществ (загрязнений), конструктивном и энергетическом обмене микроорганизмов. В результате биохимической и химической деградации этих веществ образуются простые низкомолекулярные продукты.

Биологическая очистка может осуществляться в естественных условиях (в биопрудах, на полях фильтрации и орошения) и в искусственно созданных очистных сооружениях. Биохимическая деструкция загрязнений протекает в условиях аэрации, в том числе с использованием технического кислорода, в анаэробных условиях либо проводится в несколько стадий с чередованием аэробных, анаэробных и аноксидных условий, при которых кислород содержится только в связанном состоянии (например, в виде нитратов).

В сооружениях биологической очистки в зависимости от состава сточных вод, конструктивных особенностей, условий очистки (уровень аэрации, температура, нагрузка по загрязнениям и др.) формируются специфические сообщества микроорганизмов, агрегированные в виде хлопков или гранул, находящихся благодаря перемешиванию во взвешенном состоянии, либо биопленок, закрепленных на носителях (неподвижных или подвижных).

Преимущества биологической очистки обусловлены особенностями жизнедеятельности микроорганизмов, обладающих высокой интенсивностью обменных процессов, широкими катаболическими возможностями, уникальной способностью адаптироваться к новым субстратам, в том числе токсичным.

Вместе с тем для эффективного функционирования сооружений биологической очистки необходимо строгое соблюдение технологи-

ческих параметров (температура, значение рН сточной воды, отсутствие токсичных соединений в концентрациях, ингибирующих жизнедеятельность микроорганизмов, наличие биогенных элементов, концентрация растворенного кислорода в сооружениях аэробной очистки и т. д.). Кроме того, большие проблемы при эксплуатации аэробных очистных сооружений создает высокий прирост биомассы активного ила. Затраты на обезвоживание и утилизацию избыточного активного ила составляют до 40% общих затрат на очистку воды.

Несмотря на отмеченные недостатки, биологическая очистка сточных вод нашла очень широкое распространение.

Активный ил представляет собой сложную экосистему, в состав которой входят организмы разных систематических групп. На каждом очистном сооружении формируется свой, особенный биоценоз, включающий все основные физиологические группы микроорганизмов, обеспечивающих разложение соединений углерода, азота, фосфора, серы и др. Специфичность биоценоза определяется составом и свойствами очищаемых сточных вод, а также условиями жизнеобеспечения, обусловленными конструкцией и технологическими режимами эксплуатации сооружений биологической очистки.

Указанные условия влияют также на характер агрегации организмов ила, т. е. образование ими хлопков, гранул или биопленок на поверхности раздела фаз. В данных агрегатах микроорганизмы в той или иной степени удерживаются в матрице из внеклеточных полимерных веществ, представленных полисахаридами, протеинами, нуклеиновыми кислотами. Благодаря реакционноспособным группам этих соединений (гидроксильным, карбоксильным, сульфгидрильным и др.) происходит химическое и физико-химическое взаимодействие с растворенными и нерастворенными загрязнениями и быстрое изъятие загрязнений из сточной воды. Биохимическое окисление изъятых загрязнений осуществляют микроорганизмы, расположенные в разных слоях агрегатов, и протекает оно более медленно.

В настоящее время наиболее распространены сооружения биологической очистки, в которых активный ил представлен хлопками. Хлопки благодаря аэрации или перемешиванию поддерживаются во взвешенном состоянии. Они имеют размеры от едва различимых глазом до 2–3 мм и более, могут быть шарообразной, гроздевидной, древовидной (с широкими лопастями) формы или представляют собой узкие плотные тяжи. Цвет хлопков от бурого-желтого до темно-коричневого, активному илу присущ землистый

запах. Суммарная поверхность хлопков активного ила достигает 100 м^2 на 1 г сухого вещества, что объясняет его очень высокую сорбционную способность.

Сухое вещество активного ила на 70–90% состоит из органических веществ и на 10–30% – из минеральных. Основную массу органических веществ составляют белки, содержание которых может достигать 70%. Количество белковых веществ зависит от возраста ила, вида культур микроорганизмов, образующих активный ил, что, в свою очередь, определяется составом загрязнений сточных вод. Кроме белков, органическая часть содержит липиды, углеводы, аминокислоты.

Для успешного функционирования аэротенков активный ил должен не только активно потреблять загрязнения, содержащиеся в сточной воде, но и хорошо отделяться от очищенной воды во вторичных отстойниках. Удовлетворяющий этому требованию ил имеет компактные, хорошо оседающие хлопки.

Молодой активный ил, в котором еще не сформировались плотные, достаточно крупные хлопки, имеет низкую седиментационную способность. Такой ил бывает в аэротенке при запуске, а также при большом приросте, когда удаляется значительный объем избыточного ила и возраст его (среднее время пребывания в системе «аэротенк – вторичный отстойник») уменьшается. По мере созревания ила хлопки становятся более компактными, увеличиваются в размере, накапливается биополимерный гель, защищающий клетки в хлопках от воздействия токсикантов и удерживающий клетки микроорганизмов, такие хлопки легко отделяются от очищенной воды во вторичных отстойниках.

Вместе с тем при определенных условиях может наблюдаться снижение седиментационной способности зрелого, ранее хорошо оседавшего активного ила, происходит его вспухание. Во вторичных отстойниках хлопки ила плохо оседают, поднимаются на поверхность, выносятся вместе с очищенной водой, что значительно ухудшает ее качество. Увеличивается объем избыточного ила за счет повышения содержания в нем связанной влаги, осложняется утилизация ила с высокой влажностью.

Вспухание активного ила может быть эпизодическим и хроническим. Эпизодическое вспухание возникает, если вызывающие его причины действуют кратковременно, оно начинается внезапно, интенсивно, но непродолжительно развивается. Хроническое

вспухание долго продолжается или часто повторяется, приводит к вырождению биоценоза активного ила.

По характеру происходящих в активном иле изменений выделяют два основных типа вспухания активного ила: гелевое и нитчатое.

Гелевое вспухание развивается вследствие слишком интенсивного продуцирования гетеротрофными бактериями внеклеточного биополимера (геля). Увеличение синтеза биополимерного геля связывают с присутствием в сточных водах промышленных загрязнений, трудно окисляемых биохимическими методами, оказывающих токсическое действие на организмы ила. Для окисления таких загрязнений требуется поддерживать большой возраст ила, значительная его часть после вторичных отстойников возвращается в аэротенк, биополимерный гель накапливается, хлопья ила становятся рыхлыми и прозрачными.

Нитчатое вспухание активного ила характеризуется чрезмерным развитием и накоплением организмов с нитчатой структурой (хламидобактерий, цианобактерий, сапрофитных грибов).

Эти организмы постоянно присутствуют в нормально функционирующем активном иле в небольшом количестве. При действии неблагоприятных факторов (недостаток кислорода, присутствие токсикантов, отклонение от оптимальных значений температуры и pH, дефицит биогенных элементов и др.) нитчатые получают массовое развитие вследствие своей повышенной устойчивости, в аэротенке формируется более примитивный, но и более жизнеспособный биоценоз. Нитчатые организмы создают рыхлые, открытые хлопья с развитой поверхностью и высокой окислительной способностью.

Очистка сточных вод в этих условиях может протекать эффективно, но конструкции вторичных отстойников не обеспечивают отделение вспухшего ила от очищенной воды.

1.2. Современные направления совершенствования биологической очистки сточных вод

1.2.1. Энергосберегающая технология (с карусельной зоной)

При выборе варианта реконструкции действующих очистных сооружений, кроме обеспечения эффективного удаления азота и фосфора, уделяется внимание минимизации энергетических затрат

при внедрении новых технологий. Так, на Курьяновской станции аэрации (Москва) реализована схема реконструкции аэротенка, позволяющая эксплуатировать его в режиме биологического удаления азота и фосфора.

В соответствии с данной схемой в четырехкоридорном аэротенке выделены три технологические зоны. Первый коридор (зона денитрификации) разделен двумя продольными перегородками, что позволяет уменьшить площадь живого сечения и, как следствие, увеличить скорость потока до значений, обеспечивающих поддержание ила во взвешенном состоянии. Для полного перемешивания иловой смеси установлены две горизонтальные мешалки. Из второго и третьего коридоров образована вторая (карусельная) зона, предназначенная для протекания процессов нитри- и денитрификации. Применение карусели позволяет уменьшить количество мешалок, необходимых для поддержания активного ила во взвешенном состоянии, и снизить энергетические затраты. Установленная аэрационная система обеспечивает работу в режиме частого включения – выключения подачи воздуха. Третья зона аэротенка (четвертый коридор) работает с постоянной аэрацией и является нитрификатором. Предусмотрен рецикл иловой смеси из конца зоны нитрификации (четвертый коридор) в начало зоны денитрификации (первый коридор). Перевод аэротенка с классической схемы удаления органических соединений в режим нитриденитрификации не требует снижения производительности сооружения. Реконструированный по вышеприведенной схеме аэротенк может работать в режиме биологического удаления фосфора. Для этого $\frac{2}{3}$ первого коридора отводится под анаэробную зону, в которую поступают сточные воды и возвратный активный ил, нитратный рецикл направляется в третью часть первого коридора. С целью обеспечения фосфораккумулирующих бактерий легкодоступной органикой в первый коридор подаются неосветленные сточные воды, что позволяет снизить содержание фосфора в очищенной воде с 0,48–3,40 мг/дм³ (при подаче осветленных сточных вод) до 0,10–0,45 мг/дм³ (при подаче неосветленных сточных вод).

Как отмечено выше, преимуществом карусели являются невысокие энергетические затраты на поддержание активного ила во взвешенном состоянии. Вместе с тем такая схема имеет и недостатки. Если аэробная зона выполнена в виде карусели, т. е. пред-

ставляет собой реактор практически полного перемешивания, то часть входящего потока нитрифицированной иловой смеси может попадать сразу во вторичный отстойник, что периодически приводит к проскоку сточных вод с высокой концентрацией аммонийного азота. Кроме того, даже при концентрации растворенного кислорода $0,8-1,0$ мг/дм³ в конце зоны нитрификации происходит заброс кислорода в начало аноксидной зоны, что вызывает аэробное окисление наиболее доступной из имеющейся органики. Это может привести к нарушению денитрификации и биологической дефосфотации, поскольку, согласно общепринятым представлениям, для удаления 1 мг фосфора необходимо от 14 до 20 мг легкоокисляемой органики, а для восстановления 1 мг азота нитратов – от 3 до 5 мг БПК₅. Таким образом, биореактор с карусельной зоной не обеспечивает необходимой стабильности очистки от нитратов и (или) фосфатов на низкоконцентрированных по органическим загрязнениям сточных водах. В биореакторе-вытеснителе процессы биологической денитрификации и дефосфотации происходят существенно эффективнее.

1.2.2. Использование повышенных доз активного ила

При реализации процессов совместного биологического удаления азота и фосфора требуется большее время пребывания сточных вод в сооружениях биологической очистки, что ведет к необходимости увеличения их объема на 20–30%. Кроме того, вследствие возрастания илового индекса должно быть увеличено количество вторичных отстойников. Это вызывает необходимость разработки технологий, обеспечивающих эффективность очистки сточных вод от биогенных элементов без увеличения объемов сооружений, в частности за счет увеличения дозы активного ила (до $4,5-6,5$ мг/дм³), полученной селекционным методом.

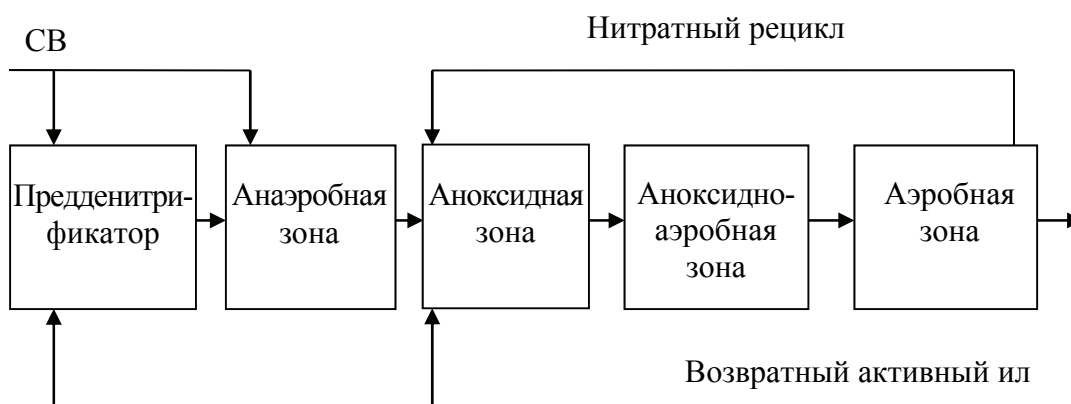
Для реализации процесса глубокого удаления фосфора из сточных вод при эксплуатации аэротенков с повышенными дозами активного ила необходимо время пребывания в анаэробной зоне сооружения 1 ч, и общий возраст ила должен составлять от 12 до 19 сут. С целью культивирования активного ила с пониженными значениями илового индекса нагрузка по органическим загрязнениям была увеличена в 1,5–2 раза для интенсивного накопления биомассы и последующего выноса из вторичного отстойника медленно оседающих фракций ила, что приводит к снижению значений

илового индекса. Была достигнута доза ила $6,5-7,0 \text{ мг/дм}^3$ и значение илового индекса $80-90 \text{ см}^3/\text{г}$, хлопья ила имели компактную форму, нитчатые бактерии практически отсутствовали. В лабораторных и промышленных испытаниях показана высокая эффективность удаления азота аммонийного (98–99%) и фосфора фосфатного (81–90%) при использовании повышенных доз активного ила.

1.2.3. Гибкая адаптивная система расположения блоков очистки

Для вновь создаваемых канализационных очистных сооружений рекомендуется гибкая адаптивная схема расположения блоков под названием Uni, показанная на рисунке. Адаптивная система при прочих равных условиях обеспечивает лучшие результаты обработки по сравнению со статичными системами и системами с программным или ручным управлением.

Согласно этой схеме, циркулирующий активный ил распределяется между предденитрификатором и основным денитрификатором в зависимости от содержания нитратов в иле. Для денитрификации ила в предденитрификатор подается часть сточных вод в соответствии с потребностью в необходимом количестве органических веществ для денитрификации (8–10 мг БПК₅ на 1 мг азота нитратов). Остальная часть сточных вод направляется в дефосфотатор, в котором в анаэробных условиях фосфор выделяется из клеток бактерий. Рециркуляция нитратсодержащей иловой смеси включается периодически при излишнем накоплении нитратов в оксидной зоне либо постоянно. В системе возможно использование реагентов для более глубокой очистки сточных вод от фосфора.



Гибкая адаптивная схема расположения блоков Uni

Схема Uni в случае применения современных компьютерных комплексов мониторинга и контроля параметров сточных вод и очищенной воды в режиме реального времени позволяет реализовать адаптивную систему очистки, оперативно реагирующую на изменения внешних и внутренних параметров.

1.2.4. Интенсификация ацидофикации в анаэробной зоне

С целью интенсификации процесса ацидофикации в анаэробной и аноксидной зонах размещается плоскостная загрузка. При размещении загрузки в анаэробной зоне на ней вырастает биопленка специфического микробного ценоза, которая содержит преимущественно анаэробные гетеротрофные бактерии, адаптированные к поступающим в зону органическим веществам и обеспечивающие их быструю деструкцию. Высокая устойчивость прикрепленных микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям, связанным с изменениями характеристик поступающих стоков, увеличивает стабильность процесса ацидофикации и уменьшает риск срыва процесса биологической дефосфотации.

1.2.5. Применение аэробного гранулированного активного ила

1.2.5.1. Преимущества использования аэробного гранулированного активного ила. Технология биологической очистки сточных вод с применением гранулированного активного ила – перспективная область развития современных биотехнологий очистки сточных вод, направленная на повышение эффективности и стабильности биологической очистки воды при увеличении окислительной мощности очистных сооружений, а также на снижение капитальных и эксплуатационных затрат.

Гранулированный ил имеет ряд преимуществ по сравнению с обычным активным илом:

- 1) облегчение разделения очищенной воды и активного ила при отстаивании;
- 2) гранулированный активный ил более устойчив к повышенным нагрузкам по загрязняющим веществам и наличию токсичных веществ;
- 3) возможность использования более высокой нагрузки на единицу объема сооружения за счет повышенных концентраций активного ила;

- 4) уменьшение вспухаемости и пенообразования в аэротенках;
- 5) улучшение фильтрационных свойств ила при его обезвоживании;
- 6) минимальное образование избыточной биомассы и, как следствие, уменьшение энергетических затрат на обработку образующегося осадка;
- 7) повышение производительности реакторов с минимальным выносом взвешенных веществ из реакторов и вторичных отстойников;
- 8) увеличение окислительной мощности очистных сооружений без возрастания капитальных и эксплуатационных затрат;
- 9) реализация технологий с гранулированным активным илом позволяет решать вопросы реконструкции очистных сооружений под перспективные технологии удаления биогенных элементов без увеличения существующих объемов сооружений. Предоставляется возможность сокращать площади очистных сооружений в 1,5–2 раза;
- 10) при использовании аэробного гранулированного ила возможно достижение очистки сточных вод по аммонийному азоту до 99%, фосфатам фосфора – до 85%, взвешенным веществам – до 95%.

1.2.5.2. Факторы, влияющие на формирование аэробного гранулированного активного ила. Впервые технология очистки сточных вод с помощью гранулированного активного ила была применена в 70-х гг. прошлого века для анаэробной обработки промышленных сточных вод. В конце 90-х гг. XX в. разработали принципы получения аэробных гранул, обеспечивающих эффективное протекание процессов удаления загрязнений из сточной воды. Согласно литературным данным, аэробные гранулы активного ила стратифицированы, т. е. во внешних слоях располагаются аэробные гетеротрофы и нитрификаторы, а денитрификаторы и фосфатаккумулялирующие денитрифицирующие бактерии – внутри гранулы. Такая структура обусловлена глубиной проникновения субстратов и кислорода в биопленку. Основными условиями для получения гранулированного ила являются процесс циклического (периодического) действия, восходящий поток сточной воды, а также ограниченное время для седиментации.

Гранулы активного ила имеют ровные края и округлую форму, методом световой флуоресцентной микроскопии показано, что гранула представляет собой сферическую биопленку, окружающую биомассу отмерших микроорганизмов активного ила. Структура

гранул подтверждена благодаря применению электронного микроскопа. В середине гранул просматриваются отмершие клетки микроорганизмов, видимые как пустые округлые образования и обрывки цитоплазматических мембран, окруженные мелкодисперсными частицами. В наружном слое преобладают живые микроорганизмы, находящиеся в состоянии активного роста. Клетки формируют микроколонии – группы клеток одного типа. Встречаются бациллы, нитчатых форм не выявлено. Большая часть клеток погружена во внеклеточный матрикс. Важно подчеркнуть, что и во внешнем, живом, слое отмечено присутствие некоторого количества мелкодисперсных частиц, которые сорбированы гранулами из сточной воды.

Установлен ряд факторов, влияющих на формирование гранул активного ила:

- добавление гранулированного активированного угля;
- уровень аэрации;
- присутствие в среде микроэлементов, таких как железо, кобальт, никель и марганец;
- концентрация субстрата, голодание после пиковой нагрузки;
- значение pH;
- наличие уже сформированных гранул;
- внесение пероксида водорода, вызывающего состояние оксидативного стресса;
- гидродинамический режим в реакторе и др.

1.2.5.3. Стадии формирования аэробного гранулированно-го активного ила. Наблюдения показали, что гранулы в своем развитии проходят ряд стадий:

1) свободная биомасса в среде агрегирует в хлопья ила. Кроме того, часть ила адгезируется на стенках колбы с образованием биопленки. Продолжительность стадии зависит от уровня ХПК, степени аэрации, частоты обновления среды со сливом части надосадочной жидкости (при этом, очевидно, часть несфлорулированного и неосевшего ила удаляется из среды) и составляет от 1 до 3 недель;

2) хлопья принимают округлую форму и уплотняются, образуя первые гранулы. Интенсивность зарастания стенок колбы снижается;

3) гранулы укрупняются и равномерно чернеют;

4) начало распада крупных гранул на части. Начало этой стадии может спровоцировать резкое изменение ХПК среды, pH, степени аэрации. В среднем стадия наступает через 50–100 сут с момента образования первых гранул.

Цвет гранул зависит от условий, в которых они существуют. Микроскопирование препаратов микроорганизмов из гранул показало, что микроорганизмы, составляющие гранулы в разные периоды развития, различны. Гранулы на первой стадии развития образованы большей частью грибными культурами. Они малоустойчивы и разрушаются в течение нескольких дней из-за лизиса содержимого во внутренней части гранул. Однако в ходе развития грибных гранул-колоний к ним присоединяются и на них закрепляются бактериальные колонии. Таким образом, гранула – это реактор, в котором взаимодействуют гетеротрофные бактерии, грибные культуры и, вероятно, бактерии-нитрификаторы и денитрификаторы, что подтверждается посевами на агаризованные селективные среды.

1.2.6. Очистка хозяйственно-бытовых сточных вод с использованием реакторов циклического действия

Принцип работы SBR-реакторов (Sequencing Batch Reactor) известен примерно с 20-х гг. прошлого века, однако только в последнее время происходит их повсеместное распространение и значительное расширение сферы использования. Такие сооружения особенно успешно работают в системах, характеризующихся периодическими низкими расходами сточных вод в отдельные периоды либо резкими изменениями режима поступления сточных вод на очистные сооружения. Системы очистки с реакторами циклического действия оказались востребованными для обработки как хозяйственно-бытовых, так и производственных сточных вод.

С появлением эффективного аэрационного оборудования, устройств для перемешивания иловой смеси и компьютерных систем управления SBR-реакторы во многих случаях становятся более предпочтительными в сравнении с традиционными сооружениями биологической очистки с активным илом.

Преимущества таких очистных систем проявляются при недостатке площади для размещения сооружений, когда за счет обработки воды только в одной технологической емкости резко уменьшается потребность в площади для размещения очистных сооружений. Кроме того, при использовании процесса декантации (отведения осветленной воды из слоя над уровнем активного ила) после обработки воды на таких сооружениях может достигаться остаточное содержание взвешенных веществ менее 10 мг/дм³, что

устраняет необходимость применения дополнительных сооружений, таких как вторичные отстойники для разделения иловой смеси и очищенных сточных вод.

При биологической очистке сточных вод с использованием реакторов периодического действия предусматривается предварительная очистка сточных вод от механических примесей на решетках и песколовках.

Количество параллельно работающих реакторов и необходимость включения в состав очистных сооружений приемных резервуаров-накопителей для сточных вод перед биологической очисткой и резервуаров-накопителей для очищенных вод зависят от неравномерности поступления сточных вод на очистку и условий отведения очищенных сточных вод.

Каждый резервуар в системе очистки с SBR-реакторами заполняется в течение определенного периода времени и затем используется как порционный реактор. После обработки иловая смесь разделяется путем осаждения активного ила и осветления очищенных сточных вод, образующихся над уровнем оседающего ила. После стадии осаждения производится декантирование очищенных сточных вод из слоя осветленной воды, образующейся при оседании флоккул активного ила, а также удаление избыточного активного ила. После выдерживания активного ила в резервуаре на протяжении некоторого времени цикл обработки может начинаться снова.

Продолжительность каждой фазы обработки определяется исходя из цели очистки и параметров активного ила.

Цикл обработки может быть задан таким образом, чтобы создавались аэробные, анаэробные и аноксидные условия для биологического удаления биогенных веществ, включая нитрификацию, денитрификацию с достижением концентраций общего азота менее 5 мг/дм^3 , а также частичное удаление соединений фосфора. Для более глубокого удаления фосфора из сточных вод может использоваться химическое осаждение за счет дозирования химических реагентов.

При применении реакторов последовательного действия для биологической очистки сточных вод с нитрификацией и денитрификацией периоды перемешивания в аноксидных условиях и периоды аэрации могут назначаться с учетом требуемой степени удаления азота.

При продолжительном наполнении предусматриваются два и более периода перемешивания в аноксидных условиях и периоды аэрации, которые производятся последовательно. Режим очистки в данном случае близок к режиму параллельной денитрификации в проточных сооружениях.

При наличии двух и более реакторов на очистных сооружениях периоды их наполнения могут чередоваться. Начало заполнения реактора сточными водами совмещается с начальным моментом фазы денитрификации, а период нитрификации прерывается периодом денитрификации, в течение которого удаляется нитрат, образованный за период денитрификации. Режим очистки в данном случае близок к режиму чередующейся денитрификации в проточных сооружениях. При залповом наполнении реактора процесс очистки близок к режиму предварительной денитрификации в проточных очистных сооружениях. Заполнение реакторов осуществляется в период денитрификации, после окончания которого назначается период аэрации. При необходимости отключается аэрация и производятся дополнительные периоды перемешивания в аноксидных условиях для денитрификации.

Если при залповом наполнении реактора до максимального уровня не достигается достаточная степень денитрификации, может предусматриваться несколько периодов залпового заполнения. При этом в течение первого периода подачи исходных сточных вод в реактор осуществляется заполнение части его рабочего объема. Подача производится в аноксидных условиях, режим наполнения и обработка назначается таким образом, чтобы после последнего периода наполнения имелось достаточно времени на проведение нитрификации.

Для повышения степени очистки сточных вод после SBR-реакторов применяют также фильтрование на песчаных фильтрах или фильтрах других конструкций.

Аэрация иловой смеси в SBR-реакторах может производиться как поверхностными механическими аэраторами, так и с использованием пневматических аэраторов различных типов. При этом в ряде случаев при применении механических аэраторов перемешивание в аноксидных и анаэробных условиях осуществляется путем погружения аэраторов в слой иловой смеси. При работе аэраторов в погруженном состоянии поступление воздуха в иловую смесь минимизируется и аэратор работает только для перемешивания содержимо-

го реактора. При использовании пневматической аэрации SBR-реакторы дополнительно оснащаются погружными мешалками, которые обеспечивают перемешивание при отключении аэраторов.

Особенностью эксплуатации погружных мешалок в таких реакторах является цикличность действия, а также их работа при переменном наполнении. Мешалки отключаются при работе аэрационных систем и во время осаждения ила и отведения очищенной воды из реакторов. Кроме того, процесс очистки может производиться при одновременном наполнении реактора, что изменяет нагрузку на перемешивающие устройства. При размещении мешалок следует учитывать влияние на процесс перемешивания различного оборудования, смонтированного внутри реакторов (декантеры, аэрационные системы).

Еще одна задача, которая решается при эксплуатации реакторов последовательного действия, – декантация, или отведение очищенной воды. При отключении перемешивающих устройств и аэраторов через 10–15 мин начинается процесс осаждения активного ила и в верхней части реактора образуется слой очищенной воды, свободный от активного ила, толщина которого с течением времени увеличивается. Для декантации требуется за относительно короткий период времени отвести очищенные воды из образовавшегося слоя осветленной жидкости таким образом, чтобы предотвратить попадание частиц ила в поток отводимой жидкости. При начале декантации существует опасность захвата и выноса с очищенных вод значительного количества активного ила при неблагоприятных условиях седиментации. С другой стороны, более позднее включение декантации гарантирует стабильность параметров очищенных вод при любых условиях седиментации. Однако второй случай режима декантации увеличивает продолжительность цикла обработки. В связи с этим длительность отдельных фаз обработки устанавливается на основании детального анализа параметров обрабатываемой воды, свойств активного ила и других данных.

При декантации очищенные сточные воды должны забираться из слоя над осевшим активным илом без его захвата и взмучивания. Одним из технических решений, обеспечивающих такой режим, является применение погружных насосов, смонтированных вместе с водосливами и перемещающихся по полости реактора при изменении уровня жидкости в нем. В данном случае насос в таком устройстве устанавливается в «перевернутом» виде в сравнении с

его монтажом на канализационных насосных станциях. При снижении уровня жидкости в сооружении такое устройство перемещается вниз, находясь в слое осветленных сточных вод, а насос в нем постоянно пребывает в жидкости, что обеспечивает охлаждение электродвигателя и не требует применения встроенных систем охлаждения.

Кроме насосных систем декантации, существуют и альтернативные варианты устройств для отведения воды, которые основаны на использовании сифонов, водоприемников с принудительным погружением, понтонных (плавающих) систем. Принцип работы плавающих декантеров основан на заборе очищенных сточных вод через водоприемное устройство. При максимальном уровне воды в реакторе водоприемные устройства открыты полностью и вода с постоянным расходом поступает в отводящий трубопровод. По мере снижения уровня воды в реакторе происходит и одновременное перемещение заборного устройства декантера, при котором сохраняется постоянный уровень воды над водоприемником, что обеспечивает одинаковый расход при его перемещении, и таким образом предотвращается турбулизация потока жидкости. При достижении минимального уровня водоприемное устройство закрывается, прекращая отвод воды из реактора.

Удаление избыточного активного ила из реакторов может осуществляться обычными канализационными насосами. Так, доза ила после окончания фазы осаждения не превышает значений концентраций примесей, допустимых для перекачки насосами с канальными рабочими колесами (10–12%).

Использование таких реакторов в системах водоотведения Республики Беларусь может помочь в решении ряда задач по достижению требуемой степени очистки сточных вод в тех случаях, когда строительство сооружений проточного типа слишком затратное или режим поступления сточных вод делает их эксплуатацию проблемной. При наличии на очистных станциях емкостных сооружений, которые нуждаются в реконструкции и могут быть переоборудованы под SBR-реакторы, использование такой технологии может характеризоваться высокой экономичностью.

Основная особенность технологии периодической биологической очистки в реакторах SBR состоит в том, что все биохимические процессы (полного окисления органики, нитрификации, денитрификации, биологического и химического удаления фосфора), а также вспомогательные процессы загрузки, отстаивания,

выгрузки (декантации) очищенных вод осуществляются в одном резервуаре. Эта технология позволяет принимать стоки с высоким коэффициентом неравномерности поступления и практически не зависит от качества поступающей воды. Использование технологии SBR дает возможность легко регулировать и при необходимости быстро изменять время пребывания очищаемой воды в биореакторе, концентрацию активного ила, нагрузку на ил, его возраст, концентрацию растворенного кислорода, время отстаивания, загрузки и выгрузки. Все технологические операции в биореакторе могут либо осуществляться по заданной временной программе, либо проводиться по показаниям датчика концентрации кислорода, т. е. по потреблению кислорода.

Вторая особенность технологии SBR – сохранение осевшего активного ила в биореакторе после завершения периода очистки сточных вод. Путем отбора или удержания в биореакторе избыточного ила выполняется коррекция концентрации активного ила при каждой новой порции очищаемого стока. Таким образом, регулируется рабочая концентрация активного ила, его возраст и нагрузка на ил в необходимых пределах, соответствующих изменению состава или концентрации загрязняющих веществ в сточных водах.

Третья особенность технологии SBR – автономная система аэрации иловой смеси в биореакторе. Аэрация осуществляется механическими турбоаэраторами на плавающей платформе или донными гиперболическими мешалками с подачей воздуха от индивидуального компрессора. Благодаря приводу с частотными преобразователями частота вращения турбин или мешалок может изменяться в широких пределах.

Четвертая особенность технологии SBR – циклический график подачи воздуха в биореактор с чередующимися периодами интенсивного насыщения иловой смеси кислородом воздуха (биоокисление органики и нитрификация) и периодами медленного перемешивания без подачи кислорода (денитрификация, биологическая дефосфатация).

В зависимости от концентрации загрязняющих веществ в сточных водах график аэрирования иловой смеси может быть быстро изменен.

Благодаря вышеназванным особенностям периодический процесс биологической очистки практически независим от значительных колебаний объемов сточных вод, поступающих на очистку,

состава и концентраций загрязняющих веществ. Это главное преимущество периодического процесса биологической очистки в сравнении с процессами, осуществляемыми непрерывно в аэротенках или биореакторах с подвижными или неподвижными загрузкиемыми материалами и прикрепленной к ним биомассой.

Значительно сокращается площадь застройки и количество насосного оборудования (отсутствие насосов для перекачки рециркуляционного активного ила).

При технологической схеме с двумя и более реакторами во время низких нагрузок возможно отключение одного из реакторов. При этом активность ила отключенного реактора сохраняется при условии его постоянной аэрации (эффект регенерации активного ила). Отключение одного или нескольких реакторов SBR возможно, например, во время зимних месяцев (при оттоке жителей в туристических регионах) или летних месяцев (когда биологические процессы ускорены из-за повышенной температуры сточной воды).

Следующим преимуществом является обеспечение в SBR-реакторе условий абсолютного перемешивания, которые из-за недостаточной аэрационной диффузии невозможно достигнуть в реакторе проточного типа.

В SBR «быстрого наполнения» концентрация субстрата в начале цикла значительно выше концентраций в конце цикла, в результате данных перепадов повышается активность ила, а также его стойкость к залповым спускам. Следующим позитивным моментом резкого изменения концентраций субстрата в реакторе считается погашение роста нитчатых бактерий и, как следствие, снижение илового индекса и улучшение процесса седиментации.

Изменение седиментационных свойств активного ила является причиной многих проблем на очистных сооружениях, предназначенных для удаления биогенных элементов. Изменения в нагрузке на активный ил в течение одного цикла стимулируют рост микроорганизмов, способных к образованию хлопков активного ила, и предотвращают развитие нитчатых бактерий, являющихся причиной плохой седиментации ила и его выноса из реактора.

Более того, в SBR-реакторах процесс седиментации осуществляется в идеальных гидравлических условиях, так как во время осаждения, а также декантирования очищенной воды отсутствует приток сточной воды и связанная с этим процессом турбулентность. При повышении илового индекса существует возможность

продления фазы седиментации и предотвращения выноса активного ила из системы.

Повышение гидравлической нагрузки на реактор проточного типа часто сопровождается скоплением активного ила во вторичном отстойнике, данное явление не находит место в SBR, таким образом, весь активный ил системы участвует в процессах очистки.

Простота конструкции SBR позволяет изготавливать реакторы в виде стандартизированных модулей, что ускоряет процесс расширения очистных сооружений без больших финансовых затрат.

При всех перечисленных преимуществах стоит отметить, что эффективность работы SBR в большой степени зависит от надежности автоматических систем управления.

Увеличение объема притока сточных вод в реактор проточного типа ведет к одновременному повышению объема сброса. Для регулирования расхода сточных вод при SBR-технологии необходимо предусматривать усреднители или регулирующие емкости.

К недостаткам также относится сложная система аэрации, эксплуатируемая в циклическом режиме.

Изменяющийся уровень воды и давление на стенки резервуара тоже являются недостатками циклического реактора.

Кроме того, возможна дополнительная нагрузка на водоем, принимающий очищенную сточную воду, возникающая в результате несинхронизированного отвода очищенных сточных вод из отдельных SBR. Предотвращение неравномерного сброса возможно при устройстве накопительного резервуара для очищенных сточных вод.

Важная отличительная особенность биореакторов SBR состоит в том, что в одном и том же типе биореактора можно осуществлять процесс очистки стоков с разными рабочими циклами: 9, 12, 15, 18, 21 или 24 ч в зависимости от степени загрязненности стоков и степени окисляемости загрязнений.

Работа биореактора состоит из последовательных фаз: наполнение, аэрация, перемешивание, отстаивание, декантация и отбор избыточного гранулированного активного ила.

1. Наполнение и перемешивание. Сточные воды поступают в SBR и перемешиваются с активным илом (при небольшой скорости турбины или мешалки) в анаэробных условиях. Эта фаза очень существенна для систем с большим содержанием органических загрязнений. На данной фазе производится контроль качества активного ила.

Скорость подачи сточных вод не имеет значения, можно организовать их подачу очень быстро из усреднителя, а можно подавать сточные воды постепенно по мере их поступления.

Подача сточных вод продолжается в условиях перемешивания и аэрации (при большой скорости турбины или одновременной работе мешалки и воздуходувки).

Аэрация может быть прекращена (низкая скорость турбины и отключение воздуходувки). Чередование аэробных и анаэробных условий обуславливает протекание процессов нитрификации, денитрификации и биологической дефосфотации. Изменение скорости турбины (или мешалки) производится автоматически в зависимости от сигнала датчика кислорода.

2. Аэрация (нитрификация). Как только биореактор наполняется, подача воды прекращается. Вновь поступающие сточные воды подаются или в следующий биореактор, или в усреднитель-накопитель. Циклы перемешивания и аэрации продолжаются до полного прекращения потребления кислорода илом. Это означает, что ил окислил все органические загрязнения, поступившие в биореактор. Прерывистая работа турбоаэратора приводит к значительной экономии энергии.

При достаточном возрасте активного ила и благоприятных условиях автотрофными бактериями осуществляется процесс нитрификации.

3. Перемешивание. Во время этой фазы подача воздуха прекращается и начинается перемешивание активного ила. В SBR-реакторе с удалением биогенных элементов во время процесса перемешивания может протекать денитрификация – процесс восстановления нитратов до газообразного азота. Важными условиями процесса денитрификации являются отсутствие растворенного кислорода и наличие легкоокисляемых органических веществ в реакторе.

Глубокое удаление фосфора достигается методом биологической дефосфотации, т. е. предварительной подготовкой бактерий в анаэробных условиях к повышенному потреблению и накоплению фосфора в последующей аэробной стадии. Технологии удаления общего фосфора основаны на совместном удалении всех форм азота. Важным условием для успешного протекания процесса является чередование аэробных и строго анаэробных условий.

4. Седиментация. После отключения аэрации и перемешивания начинается седиментация активного ила. Скорость и продол-

жительность седиментации зависят от величины илового индекса, характеризующего скорость осаждения активного ила.

5. Декантация. Перемешивание отсутствует. Декантор забирает чистую воду из верхнего слоя отстаивной воды и выводит ее из биореактора.

6. Отбор избыточного ила. Избыточный активный ил выводится из системы и подается на ленточный фильтр-пресс. SBR-реактор готов к приему следующей порции сточных вод.

1.2.7. Использование иммобилизации биомассы активного ила в практике очистки сточных вод

1.2.7.1. Преимущества использования биотенков. Аэротенки с насадкой – биотенки – получили широкое распространение в практике очистки сточных вод. Насадка позволяет увеличить концентрацию ила в биотенках за счет закрепления микроорганизмов на ней. С повышением концентрации ила возрастает пропускная способность биотенка, которая в обычных условиях лимитируется работой вторичных отстойников, не способных разделить иловые смеси при концентрации свыше 4–6 г/дм³.

Разновидностью биотенков являются аэротенки, оборудованные роторными биофильтрами, в которых значительная часть активного ила закрепляется на поверхности насадки, размещенной во вращающемся полупогруженном барабане ротора. Насадка роторов может выполняться в виде блоков из листов гофрированной пластмассы, насыпной загрузки из пластмассовых колец или рулонов из пластмассовых сеток, а также из металлических и пластмассовых дисков и т. п. Оборудование биотенков роторными биофильтрами позволяет существенно (в 1,5–2 раза) повысить их пропускную способность без увеличения размеров вторичных отстойников и снизить производительность воздуходувных станций, поскольку в них осуществляется непосредственный контакт вращающейся загрузки с атмосферным воздухом.

Повышенная концентрация биомассы активного ила в биотенке обеспечивает их устойчивость к высоким концентрациям загрязнений в поступающих сточных водах. Биотенки целесообразно применять при резких колебаниях состава поступающих сточных вод или залповых сбросах. Эти сооружения используют для очистки сточных вод производств, состав которых обуславливает развитие в активном иле нитчатых микроорганизмов.

Работа биотенков, как и обычных аэротенков, может осуществляться в режимах неполной и полной биологической очистки, с отдельной регенерацией ила или без нее, в режиме продленной аэрации с окислением избыточного активного ила. В биотенки могут быть переоборудованы существующие аэротенки путем установки в них загрузочных блоков или кассет.

В последние годы в системах доочистки сточных вод стали широко применяться новые методы, которые сочетают в себе достоинства фильтров и предусматривают возможность биологической деструкции остаточных органических загрязнений после полной биологической очистки сточных вод при помощи прикрепленной биомассы. В качестве загрузочного материала, на котором происходят процессы глубокого изъятия загрязнений, используются полимерные элементы типа «Контур», «Водоросль» и др. В практике очистки сточных вод такие сооружения получили наименование биореакторов доочистки.

Скорость фильтрации в биореакторах доочистки принимается в диапазоне от 5 до 7 м³/ч при времени обработки сточных вод 0,5–1,0 ч. Достигается снижение содержания взвешенных веществ и органических загрязнений по БПК с 15–50 до 1–5 мг/дм³.

В зависимости от степени глубокой очистки биореакторы могут быть установлены в одну или несколько ступеней.

Следует отметить, что применение аэротенков с фиксированной микробиотой наиболее целесообразно для проведения биологической очистки в режиме глубокого удаления биогенных элементов.

Аэротенки, работающие в окислительном режиме, выполняют две основные функции: окисление биоразлагаемых органических веществ до углекислого газа и воды и окисление относительно токсичных соединений аммонийного азота до менее токсичного нитратного азота. Для эффективного окисления органических веществ желательно поддерживать небольшой средний возраст ила (5–7 сут), тогда как для окисления аммонийного азота возраст ила необходимо увеличивать до 12–14 сут. Возраст активного ила на носителях больше, чем у ила во взвешенном состоянии, непрерывно удаляемом и обновляемом.

На практике выбирают обычно компромиссное решение, для чего к свободноплавающему илу добавляют специальную загрузку с развитой поверхностью. Такая технология позволяет в пределах

одной очистной системы выращивать активный ил разных типов и проводить процесс в непрерывном режиме.

1.2.7.2. Роль иммобилизованных биосистем в подавлении нитчатого вспухания активного ила. Известные методы борьбы со вспуханием активного ила в аэротенках классической конструкции сводятся в основном к подавлению деятельности нитчатых организмов. Введение в аэротенки загрузочных материалов позволяет закрепить на поверхности этих носителей нитчатые бактерии активного ила, обладающие хорошей способностью прикрепляться к различным поверхностям и высокой окислительной способностью. Таким образом, эти бактерии не попадают с иловой смесью во вторичные отстойники, что обеспечивает более надежную работу очистных сооружений.

В системах, оснащенных носителями, за счет возрастания концентрации ила и общей биомассы происходит снижение нагрузок на ил, что также является одним из факторов, приводящих к подавлению нитчатого бактериального вспухания и улучшению качества очистки.

В связи с этим биотенки рекомендуется использовать для биологической очистки производственных сточных вод, для которых характерно образование активного ила с интенсивным развитием нитчатых бактерий и высоким иловым индексом (например, сточные воды молокоперерабатывающей промышленности).

1.2.7.3. Технологические особенности применения носителей на очистных сооружениях. Рекомендуемый суммарный объем носителей должен составлять от 5 до 15% от общего объема аэротенков. Это позволяет обеспечить подавление нитчатого вспухания, максимальную окислительную мощность системы, высокую скорость нитрификации. В то же время указанный объем носителей предупреждает падение удельных скоростей окисления, угнетение метаболизма организмов активного ила, находящегося во взвешенном состоянии, за счет избыточной массы биопленки.

По данным отечественных и зарубежных исследователей количество наполнителя может быть большим, но не должно превышать 30% от общего объема аэрационной части.

В процессе очистки происходит самопроизвольное образование биопленки на поверхности носителя. При использовании плавающих носителей отмечается периодическое фрагментарное отделение отмерших частиц и их вынос в зону отстаивания, т. е. система регенерации является саморегулирующейся.

При применении в качестве насадки насыпных и волокнистых материалов необходимо предусматривать их периодическую регенерацию от чрезмерного накопления биомассы путем интенсивной аэрации. Например, при заиливании загрузочного материала в биореакторах доочистки их отмывают подачей воздуха через аэрационную систему. Водовоздушный поток внутри контейнеров срывает иловые отложения с загрузки, в это время осуществляют опорожнение биореактора, и ил выводится из сооружения. На период промывки биореактора подача сточной жидкости на доочистку прекращается.

Отмечено отсутствие заиливания ершовой загрузки в зонах денитрификации, так как денитрифицирующие бактерии прикрепленного биоценоза выделяют молекулярный азот. Пузырьки газа взрыхляют биомассу и способствуют ее отделению от носителя.

В аэрируемых зонах с целью регенерации блоки с носителями устанавливаются непосредственно над аэраторами.

При изготовлении ряда носителей следует предусматривать их защиту от засорения. Если этого не обеспечивать, в процессе эксплуатации они быстро засоряются плавающими отбросами, которые загнивают, и качество очищенных сточных вод ухудшается. Очистка носителей биомассы промыванием струей воды – трудоемкая процедура, а если она предусмотрена непосредственно в аэротенках, это требует их опорожнения. Носители биомассы ершового типа можно защищать от засорения синтетической рыболовной сетью с малым размером ячеек, что позволяет эксплуатировать их без периодической очистки от накопившегося мусора.

Применение носителей биомассы имеет свои ограничения. Так, например, их нельзя использовать при очистке сточных вод с повышенным содержанием нефтепродуктов и жиров (сточные воды нефтеперерабатывающих, маргариновых, молочных заводов и т. п.). Масляные продукты обволакивают материал носителей и быстро выводят их из строя.

При неудовлетворительной аммонификации белковых соединений в системе канализации и высоком содержании белка в сточных водах, поступающих на очистку, этот процесс будет обеспечиваться в анаэробных зонах на носителях, результатом чего станет увеличение содержания аммонийного азота в очищенных сточных водах.

1.2.8. Мембранные методы

При строительстве новых и реконструкции уже существующих очистных сооружений предлагается ряд принципиально но-

вых решений, самым технически доступным из которых на сегодняшний день является мембранный биореактор (МБР). Использование МБР позволяет повысить эффективность и надежность функционирования очистных сооружений, увеличить их производительность, сократить занимаемые площади, снизить объем избыточного активного ила.

Основным отличием мембранного биореактора от систем традиционной биологической очистки в аэротенках является наличие мембранного модуля, который предназначен для разделения иловой смеси и представляет собой альтернативу широко применяемому методу осаждения активного ила во вторичных отстойниках.

Мембранные модули производят на базе микро- и ультрафильтрационных мембран, что определяет их избирательную проницаемость по отношению к компонентам разделяемой смеси. Четкой границы, разделяющей процессы микро- и ультрафильтрации, нет. Считают, что микрофильтрационные мембраны способны задерживать взвешенные вещества, коллоидные соединения, бактерии, некоторые макромолекулы (например, гуминовые кислоты). Ультрафильтрационные мембраны обеспечивают селективное концентрирование частиц размером более $5 \cdot 10^{-3}$ мкм, т. е. вирусов, органических молекул (например, белков) и ионов. Мембраны изготавливают из различных материалов (поливинилиденфторид, полиамид, полиакрилонитрил, фторопласт и др.).

В процессах биологической очистки сточных вод получили распространение мембранные модули с плоскими элементами, которые просты и удобны в эксплуатации. Однако плоские элементы имеют небольшую удельную поверхность ($110\text{--}240 \text{ м}^2/\text{м}^3$) и, следовательно, невысокую производительность ($15\text{--}25 \text{ дм}^3/(\text{м}^2 \cdot \text{ч})$). Наиболее широко используются высокопроизводительные установки с полыми волокнами, удельная поверхность фильтрования которых варьирует в пределах $260\text{--}1100 \text{ м}^2/\text{м}^3$. Пропускная способность их составляет от 20 до $100 \text{ дм}^3/(\text{м}^2 \cdot \text{ч})$.

Мембранный биореактор представляет собой емкостное сооружение, оборудованное определенным количеством мембранных модулей, от которых зависит его производительность. В погружных МБР мембранный модуль погружен непосредственно в иловую смесь и устанавливается в биореакторе или отдельном резервуаре. Модуль включает 10–20 кассет с мембранами. В каждой кассете располагаются от 5 до 15 пучков, состоящих из 100–

1000 мембранных волокон и оборудованных общим патрубком отвода фильтрата. Мембранное волокно представляет собой полую нить длиной до 2,0–2,5 м с наружным диаметром 2,0–2,5 мм и внутренним диаметром около 1,5 мм.

Движущей силой процесса ультрафильтрации является градиент давлений, который составляет около 0,2–0,3 МПа. Во внутренней полости мембранного волокна с помощью вакуумного или самовсасывающего насоса создается отрицательное давление (разрежение).

В результате разницы давлений на внешней и внутренней поверхностях волокна происходит всасывание иловой смеси снаружи внутрь волокна. Далее фильтрат отводится по внутренней поверхности мембранного волокна и поступает во всасывающий трубопровод насоса, создающего отрицательное давление.

Существенным недостатком мембран является невысокая водопроницаемость, что в значительной степени связано с явлением «концентрационной поляризации» мембран, сущность которого заключается в формировании примембранного слоя молекул и ионов, тормозящего транспорт через мембрану низкомолекулярных соединений. Негативный эффект явления «концентрационной поляризации» мембран минимизируют созданием непрерывного турбулизованного протока жидкости около поверхности мембран. Для этого в МБР внутри каждого пучка волокон установлен крупнопузырчатый аэратор. Пузырьки воздуха, подаваемые аэратором, создают восходящий водовоздушный поток, который обеспечивает сбивание отложений активного ила и отвод их с внешней поверхности волокон. Кроме того, с помощью системы аэрации, встроенной в мембранный модуль, активный ил в мембранном резервуаре поддерживается во взвешенном состоянии, а иловая смесь насыщается кислородом, что создает благоприятные условия для биологической очистки.

Опыт эксплуатации МБР подтверждает их высокую эффективность. Технология позволяет решить ряд проблем в отношении эксплуатационных характеристик установки, физиологического состояния активного ила, а также качества очистки сточных вод по некоторым показателям:

1. Решение проблемы выноса активного ила с очищенными сточными водами. Поры ультрафильтрационных мембран имеют меньший размер, чем размеры клеток микроорганизмов. Таким образом, мембрана является физическим барьером на пути про-

никновения организмов активного ила в водные объекты с очищенными сточными водами. В МБР видовой состав, размер и форма хлопков активного ила не оказывают влияния на эффективность илоотделения. Отсутствует проблема «вспухания» ила, так как размер нитчатых микроорганизмов более чем в 5 раз больше размера пор ультрафильтрационных мембран. МБР обеспечивает практически полное удаление взвешенных веществ, их концентрация в очищенной воде не превышает 1 мг/дм^3 .

2. Предотвращение выноса биогенных элементов со взвешенными веществами. Мембранное разделение иловой смеси позволяет избежать выноса азота и фосфора в составе дисперсных хлопков активного ила, что имеет место в схемах со вторичными отстойниками.

3. Изменение подхода к эксплуатации сооружений биологической очистки. Эксплуатация аэротенков и вторичных отстойников основывается на селекции компактных, хорошо оседающих хлопков активного ила. Отказ от селекции крупных хлопков активного ила за счет замены самого механизма разделения иловой смеси в МБР позволяет эксплуатировать эти сооружения с параметрами, значение которых находится вне диапазона нормальных режимов эксплуатации традиционных конструкций аэротенков.

4. Эффективная очистка за счет большой площади контакта микроорганизмов со сточными водами. Размер хлопков активного ила в МБР в 5–10 раз меньше, а концентрация нитчатых микроорганизмов в 5–10 раз выше, чем в аэротенках с последующим вторичным осаждением. За счет дисперсности активного ила многократно увеличивается площадь контакта микроорганизмов активного ила со сточными водами, что приводит к эффективной сорбции тяжелых металлов, трудноокисляемых и инертных органических веществ.

5. Высокая окислительная мощность при малых объемах биореактора. Отказ от гравитационного метода разделения иловой смеси позволяет повысить концентрацию активного ила в биореакторе до $10\text{--}20 \text{ г/дм}^3$ (в обычном аэротенке – $2\text{--}4 \text{ г/дм}^3$), что при равенстве объемов с традиционными конструкциями аэротенков предоставляет возможность производить очистку высококонцентрированных сточных вод с содержанием органических веществ по ХПК до $4\text{--}5 \text{ г/дм}^3$. Одновременно высокие дозы ила позволяют сократить время пребывания сточных вод в сооружении,

а следовательно, уменьшить объем биореактора в 2–3 раза. Как следствие, площадь, занимаемая МБР, в 2–4 раза меньше площади, занимаемой традиционными сооружениями биологической очистки.

6. Сокращение количества избыточного активного ила. При переходе от гравитационного метода разделения иловой смеси к мембранной фильтрации наблюдаются глубокие изменения в структуре биоценоза активного ила. В традиционных очистных сооружениях возраст ила не может превышать 15 сут, поскольку при дальнейшем его увеличении ухудшаются седиментационные свойства хлопков, и отмечается вынос ила из вторичных отстойников. Возраст ила в МБР составляет от 20–30 сут при очистке хозяйственно-бытовых и городских сточных вод до 100 сут и более при очистке высококонцентрированных сточных вод. Верхний предел возраста ила зависит от эффективности гидролиза отмершей клеточной массы и допустимой массы инертных взвешенных веществ в мембранном биореакторе. Несмотря на наличие нитчатых микроорганизмов, за счет повышенной минерализации активный ил обладает удовлетворительными водоотдающими свойствами и поступает на обработку непосредственно из биореактора. Преобладание медленнорастущей микробиоты позволяет значительно снизить прирост ила (так как возраст ила обратно пропорционален массе избыточного ила), и в МБР на 30–40% сокращается объем осадка, а значит, и расходы на обезвоживание избыточного активного ила и его утилизацию.

7. Эффективная нитрификация сточных вод. Эксплуатация в условиях повышенного возраста активного ила приводит к селекции медленнорастущей микробиоты, которая наиболее эффективно разлагает трудноокисляемые органические вещества, обеспечивает процессы нитрификации сточных вод. Добиться высоких показателей в биологической очистке от соединений азота и фосфора позволяет чередование анаэробных (бескислородных) и аноксидных (бескислородных с наличием ионов нитратов) зон в МБР.

8. Обеззараживание сточных вод. Эквивалентный диаметр пор микрофильтрационных мембран находится в пределах 0,1–8,0 мкм, ультрафильтрационных – 0,01–0,10 мкм. Вследствие того, что поры мембран имеют меньший размер, чем размеры некоторых вирусов и клеток подавляющего большинства известных бактерий, а также за счет образования отложений на поверхности мембраны, выступающих как дополнительный фильтрующий

слой, в МБР происходит частичное обеззараживание сточных вод. Эффективность задержания бактерий составляет около 99,999%, вирусов – 99,9%. Таким образом, непосредственно после МБР очищенная вода может быть сразу направлена на повторное использование для непитьевых целей.

9. Устойчивость процесса очистки к колебаниям концентраций загрязняющих веществ и залповым сбросам. Высокие концентрации активного ила позволяют эксплуатировать биореактор в режиме низких нагрузок на активный ил (до 0,2 кг БПК/(кг·сут)), что создает резерв окисляющей способности и повышает устойчивость биоценоза активного ила к колебанию состава сточных вод. Использование мембранного метода разделения иловой смеси, эффективность которого не зависит от физиологического состояния активного ила, обеспечивает высокую степень очистки при залповых сбросах загрязняющих веществ и ксенобиотиков, негативно влияющих на физиологическое состояние микроорганизмов активного ила.

10. Вклад мембраны в удаление загрязняющих веществ. За счет образования динамического слоя отложений на поверхности мембраны и в ее порах происходит физическое удаление значительного количества макромолекул, коллоидных веществ. Вклад мембраны в общую эффективность удаления органических веществ в мембранных биореакторах составляет от 10 до 20%.

В процессе фильтрации в порах и на поверхности мембран образуются биологические и минеральные отложения. Для эффективной борьбы с отложениями современная практика эксплуатации погружных мембранных биореакторов предполагает использование четырех методов:

- периодическая или постоянная аэрация наружной поверхности полволоконных и плоских мембран;
- обратная промывка фильтратом;
- периодическая обратная промывка слабokonцентрированными растворами реагентов (обычно гипохлорит натрия или слабая органическая кислота);
- погружение мембранных модулей в слабokonцентрированный раствор гипохлорита натрия на период 12–30 ч.

Срок службы мембран составляет 8–12 лет.

Повышенный интерес к технологии МБР в последние годы обусловлен значительным снижением стоимости данной технологии.

По капитальным затратам технология практически сравнялась с затратами на строительство системы «аэротенк – вторичный отстойник – сооружения доочистки», при этом обеспечивается надежность в эксплуатации, возможность полной автоматизации и более высокая эффективность очистки.

Применяются мембранные биореакторы при очистке сточных вод текстильного производства, молокозаводов и маслосырзаводов, птицефабрик и других предприятий, а также при очистке поверхностных сточных вод. В зависимости от типа мембранных модулей производительность очистных сооружений предприятий может составлять от 25 до нескольких тысяч м³/сут, городских очистных сооружений – от 1000 до сотен тысяч м³/сут

Промышленные мембранные установки должны соответствовать следующим требованиям, которые необходимо учитывать на стадии проектирования:

- 1) большая рабочая поверхность мембран на единицу объема установки;
- 2) простота монтажа и обслуживания системы;
- 3) обеспечение равномерного распределения жидкости по мембранным элементам с достаточно высокой скоростью течения для уменьшения воздействия концентрационной поляризации;
- 4) создание условий для минимального перепада давления в установке;
- 5) герметичность, коррозионная стойкость и достаточный запас механической прочности для работы при повышенных давлениях и с агрессивными химическими средами.

1.3. Лабораторная работа

Очистка сточных вод в аэробных условиях

Вопросы для самоподготовки. 1. Характеристика и классификация сточных вод. 2. Способы очистки сточных вод. 3. Преимущества и недостатки биологического способа очистки. 4. Особенности очистки сточных вод в аэробных условиях. 5. Процессы, лежащие в основе удаления из сточных вод соединений азота и фосфора. 6. Факторы, влияющие на аэробную очистку сточных вод.

Цель работы – практическое знакомство с аэробным процессом очистки сточных вод; усвоение методов определения перман-

ганатной окисляемости, биологического потребления кислорода (БПК), содержания фосфора фосфатного и общего в исходных и биологически очищенных водах.

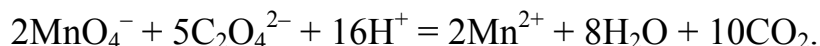
Порядок выполнения работы. Установить перманганатную окисляемость и БПК исходных сточных вод. Определить содержание фосфора фосфатного и общего. Подготовить сточные воды и провести биологическую очистку в аэробных условиях. Определить перманганатную окисляемость, БПК, содержание фосфора фосфатного и общего в биологически очищенных водах.

1.3.1. Определение перманганатной окисляемости

Метод предназначен для быстрого определения количества кислорода, необходимого для химического окисления легкоокисляемых веществ, содержащихся в анализируемой воде. Кислород выделяется в результате разложения перманганата калия в кислой среде при кипячении в присутствии восстановителей:



После окончания окисления определяют количество перманганата, не израсходованного на окисление, титрованием щавелевой кислотой:



Реактивы и оборудование: 0,01 н. раствор перманганата калия; 0,01 н. раствор щавелевой кислоты; серная кислота; конические колбы емкостью 250 см³; бюретка.

1.3.1.1. Приготовление раствора серной кислоты. К 30 см³ дистиллированной воды осторожно приливают 10 см³ серной кислоты (удельный вес 1,84 г/см³) и несколько капель 0,01 н. раствора перманганата калия до устойчивой розовой окраски. Раствор кипятят 30 мин. Если розовая окраска исчезнет, к раствору добавляют еще несколько капель 0,01 н. раствора перманганата калия.

1.3.1.2. Подготовка пробы. Сточные воды до очистки разбавляют перед анализом в 5 раз, а сточные воды, прошедшие очистку, разбавляют в 2 раза.

1.3.1.3. Ход анализа. В коническую колбу емкостью 250 см³ приливают 75 см³ дистиллированной воды, 5 см³ раствора серной кислоты, 10 см³ 0,01 н. раствора перманганата калия, 10 см³ разбавленной пробы. Для обеспечения равномерности кипения в реагирующую жидкость кладут кусочек пористого стекла, горло колбы

закрывают маленькой воронкой, колбу ставят на включенную электроплитку и кипятят 10 мин после появления первых пузырей. По окончании окисления колбу снимают с электроплитки, вливают в нее 10 см³ 0,01 н. раствора щавелевой кислоты и сразу титруют раствором перманганата калия до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Параллельно проводят холостой опыт, в котором не добавляют сточные воды, а определяют окисляемость дистиллированной воды.

После окончания холостого опыта, не выливая реакционной жидкости, выполняют проверку титра 0,01 н. раствора КМnО₄ по щавелевой кислоте. В колбу с горячей реакционной жидкостью вливают 10 см³ 0,01 н. раствора щавелевой кислоты и оттитровывают ее 0,01 н. раствором перманганата калия до розовой окраски, не исчезающей на протяжении 1 мин. Поправочный коэффициент k для пересчета концентрации рабочего раствора КМnО₄ в точно 0,01 н. раствор рассчитывают по формуле

$$k = \frac{10}{a},$$

где a – объем 0,01 н. раствора перманганата калия, пошедший на титрование, см³.

Окисляемость анализируемой пробы X , мг/дм³, выражают количеством кислорода или перманганата калия, которое расходуется для окисления веществ, содержащихся в 1 дм³ сточных вод, и вычисляют по формуле

$$X = \frac{(a - b) \cdot K \cdot k \cdot 1000}{g},$$

где a – объем 0,01 н. раствора перманганата калия, израсходованный на титрование щавелевой кислоты, см³; b – объем 0,01 н. раствора перманганата калия, пошедший на титрование щавелевой кислоты в холостом опыте, см³; K – 0,08 мг кислорода или 0,32 мг КМnО₄, которые эквивалентны 1 см³ 0,01 н. раствора перманганата калия; g – объем неразбавленной пробы, взятый на анализ, см³.

1.3.2. Определение БПК

Для определения БПК сточных вод их разбавляют водой, содержащей 8–9 мг/дм³ кислорода и практически не содержащей

окисляемых органических веществ. Разбавление рассчитывают таким образом, чтобы кислорода, содержащегося в разбавляющей воде, хватило на полное окисление органических веществ, которые находятся в сточных водах. Разбавленные сточные воды анализируют на содержание кислорода (см. п.1.3.3), затем вводят в них ассоциацию почвенных микроорганизмов и инкубируют в термостате при температуре 20°C. Через соответствующее количество суток (5, 20) пробу снова анализируют на содержание кислорода (см. п. 1.3.3). По изменению концентрации кислорода рассчитывают БПК анализируемых сточных вод через известное количество суток.

Реактивы и оборудование: KH_2PO_4 ; K_2HPO_4 ; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; NH_4Cl ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; CaCl_2 ; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,1%-ный водный раствор бромтимолового синего; 0,05%-ный раствор метиленового синего; мерная колба емкостью 1 дм³; мерная колба емкостью 500 см³; склянки для инкубации с притертыми пробками и колпачками; хладотермостат.

1.3.2.1. Приготовление разбавляющей воды. Для ее приготовления используют дистиллированную воду, не содержащую едких щелочей, кислот, активного хлора и бактерицидных веществ. Содержание меди и свинца в ней не должно быть более 0,01 мг/дм³. Готовят четыре раствора: фосфатный буфер, в 1 дм³ которого содержится 8,5 г KH_2PO_4 , 21,75 г K_2HPO_4 , 33,4 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и 1,7 г NH_4Cl (значение рН буферного раствора должно быть равно 7,2); раствор сернокислого магния, в 1 дм³ которого содержится 22,5 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; раствор хлористого кальция, в 1 дм³ которого содержится 27,5 г безводного CaCl_2 ; раствор хлористого железа, в 1 дм³ которого содержится 0,25 г $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Затем в мерную колбу емкостью 1 дм³ вносят по 1 см³ каждого приготовленного раствора и дистиллированную воду до метки на колбе. Полученный раствор перемешивают и применяют для разбавления сточных вод при анализе.

1.3.2.2. Подготовка культуры микроорганизмов. В колбу вносят 2 г сухой почвы, прибавляют 100 см³ дистиллированной воды, энергично взбалтывают в течение 5 мин и фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат используют для анализа.

1.3.2.3. Подготовка пробы. Анализируемые сточные воды нейтрализуют 1 н. раствором щелочи или 1 н. раствором кислоты до рН 7 по рН-метру (или по индикаторной бумаге).

Для проведения анализа сточные воды разбавляют водой, содержащей определенное количество кислорода. Ориентировочную величину разбавления получают, разделив величину перманганатной окисляемости на 5.

1.3.2.4. Ход анализа. В мерную колбу емкостью 500 см³ вносят 5 см³ сточных вод (если выбрано разведение 1 : 100), 1 см³ воды с микроорганизмами и доводят объем разбавляющей водой до метки на колбе. Раствор перемешивают и разливают осторожно (без пузырьков воздуха) по стенкам в две инкубационные склянки. Склянки закрывают притертыми пробками, после чего разбавленные сточные воды наливают в колпачок и, перевернув склянку с жидкостью вверх дном, плотно вставляют ее в колпачок. Часть воды из колпачка при этом выливается. Склянку с колпачком переворачивают, ставят на дно и проверяют отсутствие пузырьков воздуха в колпачке и склянке. Колпачком закрывают одну из заполненных инкубационных склянок, а вторую используют для определения исходного содержания кислорода (см. п. 1.3.3).

Параллельно готовят контрольную пробу, которой является разбавляющая вода с микроорганизмами. В мерную колбу емкостью 500 см³ вносят 1 см³ воды с микроорганизмами и разбавляющую воду до метки на колбе. Раствор перемешивают и разливают в две инкубационные склянки. Одну закрывают колпачком, как описано выше, а другую используют для определения исходного содержания кислорода (см. п. 1.3.3).

Две склянки, закрытые колпачками, помещают в хладотермостат при 20°С. Через 5 сут их достают и анализируют содержание кислорода после инкубации.

Количество кислорода, использованное микроорганизмами для окисления органических веществ, содержащихся в 1 дм³ анализируемых сточных вод за 5 сут БПК₅, мг/дм³, рассчитывают по формуле

$$\text{БПК}_5 = [(C_0 - C) - (C_{0к} - C_k)] \cdot n,$$

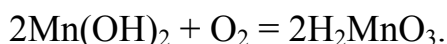
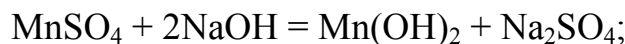
где C_0 – концентрация кислорода в разбавленной анализируемой пробе до инкубации, мг/дм³; C – концентрация кислорода в разбавленной анализируемой пробе после инкубации, мг/дм³; $C_{0к}$ – концентрация кислорода в контрольной пробе до инкубации, мг/дм³; C_k – концентрация кислорода в контрольной пробе после инкубации, мг/дм³; n – разбавление пробы перед инкубацией.

Предостережения! 1. В прошедших биологическую очистку сточных водах развит процесс нитрификации, который продолжается при их инкубации. Количество кислорода, израсходованного за время инкубации на окисление азотистых соединений, может в несколько раз превышать количество кислорода, израсходованного на окисление органических веществ. Для прекращения процесса нитрификации необходимо на 1 дм³ разбавляющей воды прибавить 6 см³ 0,05%-ного раствора метиленового синего.

2. При выполнении анализа необходимо особое внимание уделять чистоте инкубационных склянок. Перед анализом их надлежит вымыть хромовой смесью и высушить при 150–170°C.

1.3.3. Определение растворенного кислорода

Метод основан на йодометрическом определении кислорода, израсходованного на окисление двухвалентного марганца в четырехвалентный. Реакции протекают по следующим уравнениям:



Белый осадок гидроксида марганца быстро окисляется растворенным в воде кислородом, при этом образуется марганцеватистая кислота (коричневый осадок). Этот осадок растворяют серной кислотой в присутствии йодистого калия. Четырехвалентный марганец восстанавливается йодом до двухвалентного по уравнению



Количество свободного йода, эквивалентное количеству растворенного кислорода, определяют титрованием раствором гипосульфита натрия.

Реактивы и оборудование: H₂SO₄; MnSO₄ · 2H₂O; NaOH; KI; Na₂S₂O₃; конические колбы емкостью 500 см³; склянки для инкубации; кристаллизатор; бюретка.

1.3.3.1. Приготовление реактивов:

- а) серная кислота (разбавленная водой в соотношении 2 : 3);
- б) насыщенный раствор сернокислого марганца (400 г MnSO₄ × 2H₂O на 1 дм³ дистиллированной воды);
- в) щелочной раствор йодистого калия. В фарфоровую чашку наливают 450 см³ дистиллированной воды и растворяют в ней 750 г едкого натра, добавляя его небольшими кусочками при постоянном

перемешивании. После растворения едкого натра раствор переливают в прозрачную склянку и оставляют для отстаивания на 2–3 сут. Затем прозрачный раствор едкого натра сливают в сухую чистую склянку.

В мерной колбе на 1 дм³ растворяют 150 г йодистого калия в 250 см³ дистиллированной воды. К полученному раствору прибавляют приготовленный раствор едкого натра в таком количестве, которое содержит 500 г NaOH. Объем доводят дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают и проверяют на содержание свободного йода. Для этого 3–5 см³ щелочного раствора нейтрализуют кислотой до кислой реакции и прибавляют 2 капли раствора крахмала. Если в растворе нет свободного йода, то он останется бесцветным. Посинение раствора свидетельствует о наличии йода;

г) 0,01 н. раствор серноватисто-кислого (гипосульфита) натрия (Na₂S₂O₃). Раствор готовят из фиксаля или по навеске. Дистиллированную воду для приготовления раствора кипятят в течение 2 ч для удаления CO₂. Затем колбу закрывают пробкой с хлоркальциевой трубкой, которая заполнена натронной известью (смесь едкого натра и гашеной извести), охлаждают воду до комнатной температуры и используют ее для приготовления раствора. Раствор гипосульфита натрия консервируют, добавляя на 1 дм³ раствора 4 см³ 1 н. раствора едкого натра и 5 см³ хлороформа. Гипосульфит хранят в темной стеклянной посуде. Перед использованием проверяют титр раствора гипосульфита следующим образом.

В коническую колбу емкостью 250 см³ наливают 5 см³ серной кислоты (2 : 3), 3 см³ свежеприготовленного 10%-ного раствора йодистого калия и 20 см³ 0,01 н. раствора K₂Cr₂O₇. Колбу с раствором ставят в темное место на 10 мин, после чего добавляют в нее 50 см³ дистиллированной воды и титруют раствором гипосульфита в присутствии крахмала до перехода синей окраски раствора в светло-зеленую. Концентрацию раствора гипосульфита N , н., рассчитывают по следующей формуле:

$$N = \frac{0,01 \cdot 20}{V},$$

где V – объем раствора гипосульфита, пошедший на титрование, см³;

д) 0,5%-ный раствор крахмала. В фарфоровой чашке тщательно перемешивают 0,5 г растворимого крахмала с 5 см³ дистилли-

рованной воды и быстро выливают в склянку с 95 см³ кипящей воды, хорошо перемешивают, доводят до кипения. После охлаждения раствор фильтруют и переливают в капельницу, добавив 0,125 г салициловой кислоты.

1.3.3.2. Ход анализа. Для анализа берут всю воду из склянки для инкубации. Склянку ставят в кристаллизатор и достают из нее пробку. Пипетку объемом 1 см³ заполняют раствором сернокислого марганца и, опустив ее в склянку на 4–5 см, выливают раствор в анализируемую пробу. Таким же образом в содержимое склянки вводят 1 см³ щелочного раствора йодистого калия. Затем склянку закрывают пробкой, ее содержимое тщательно перемешивают и оставляют для отстаивания. Во время этой операции из склянки удаляется 2 см³ анализируемой жидкости, которую учитывают при расчетах.

После осаждения всего осадка в склянку вносят 3 см³ серной кислоты (2 : 3), закрывают ее пробкой и жидкость в склянке перемешивают до полного растворения осадка (3 см³ прозрачной жидкости, которая выливается из склянки в результате добавления кислоты, в расчетах не учитывают, поскольку содержащийся в ней кислород уже прореагировал с марганцем). После растворения осадка, когда жидкость приобретает цвет выделившегося йода, ее количественно переносят в коническую колбу емкостью 500 см³ и титруют раствором гипосульфита в присутствии крахмала до исчезновения синей окраски раствора.

Концентрацию кислорода C , мг/дм³, в анализируемой жидкости рассчитывают по формуле

$$C = \frac{a \cdot 0,08 \cdot 1000}{V - 2},$$

где a – объем 0,01 н. раствора гипосульфита, израсходованный на титрование, см³; 0,08 – количество кислорода, эквивалентное 1 см³ 0,01 н. раствора гипосульфита, мг; V – объем склянки с анализируемой жидкостью, см³; $(V - 2)$ – объем жидкости, взятой на анализ, см³.

1.3.4. Определение фосфора фосфатного колориметрическим методом

Определение фосфора основано на реакциях получения молибденовой сини. Фосфор, связанный в минеральных соединениях,

устанавливают непосредственно в пробе. Фосфор, связанный в органических соединениях, определяют после минерализации пробы, при этом количество найденного фосфора составляет сумму фосфора в минеральных и органических соединениях, содержащихся в пробе.

Соединения, содержащие фосфор, обрабатывают молибденово-кислым аммонием в кислой среде в присутствии восстановителя (аскорбиновой кислоты). В присутствии молибденово-кислого аммония образуется фосфорно-молибденовая кислота:



При воздействии сильных восстановителей в кислой среде шестивалентный молибден восстанавливается, образуя соединения низших степеней окисления разной окраски. Соединения, соответствующие формуле $\text{Mo}_n\text{O}_{3n-x}$, где x может быть равен 1, 2, 3, имеют синюю и фиолетовую окраску. Смесь этих соединений называют молибденовой синью.

Количество образованных окрашенных соединений пропорционально количеству фосфора, присутствующего в реакционной смеси. Интенсивность окраски раствора молибденовой синью оценивают с помощью фотоэлектроколориметра.

Реактивы и оборудование: H_2SO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$; аскорбиновая кислота; термостат; фотоэлектроколориметр.

1.3.4.1. Приготовление смешанного реактива. Для приготовления берут:

а) 2 н. раствор серной кислоты. В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают $54,32 \text{ см}^3$ концентрированной серной кислоты, доводят до метки дистиллированной водой, хорошо перемешивают;

б) 2,5%-ный раствор аммония молибденово-кислого. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 2,5 г молибденово-кислого аммония, доводят до метки дистиллированной водой, хорошо перемешивают. Данный раствор стабилен в течение месяца;

в) 10%-ный раствор аскорбиновой кислоты. В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 2,5 г аскорбиновой кислоты, доводят до метки дистиллированной водой, хорошо перемешивают;

г) приготовление смешанного реактива. Смешивают 30 см^3 2 н. серной кислоты, 10 см^3 10%-ного раствора аскорбиновой кислоты и 10 см^3 2,5%-ного раствора молибденово-кислого аммония. Смешанный реактив готовится непосредственно перед использованием.

1.3.4.2. Колориметрический анализ. В пробирку вносят 2 см^3 исследуемого раствора и 2 см^3 смешанного реактива, приготовленного, как описано выше (см. п. 1.3.4.1). Пробу помещают в термостат при температуре 37°C на 1 ч. Анализ полученного раствора проводят колориметрированием на ФЭК-М при длине волны 820 нм и толщине кюветы 0,5 см. Раствор сравнения – дистиллированная вода. По уравнению, полученному для описания калибровочной кривой зависимости экстинкции реакционной смеси от концентрации фосфора (см. п. 1.3.4.3), рассчитывают концентрацию фосфора в пробе.

1.3.4.3. Построение калибровочного графика и определение уравнения для расчета содержания фосфора фосфатного. Готовят основной эталонный раствор, в котором концентрация фосфора составляет 20 мг/дм^3 . Для этого $8,77 \text{ мг}$ KN_2PO_4 растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды. Основной эталонный раствор разбавляют дистиллированной водой в таких соотношениях, чтобы получить рабочие эталонные растворы, содержащие различные количества фосфора: 0,1; 0,2; 0,4; 0,5; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 4,0; 5,0; 8,0 $10,0 \text{ мг/дм}^3$.

Для проведения колориметрического анализа в отдельные пробирки вносят по 2 см^3 каждого из рабочих эталонных растворов и добавляют по 2 см^3 смешанного реактива. Пробу термостатируют при температуре 37°C в течение 1 ч и подвергают колориметрическому анализу (см. п. 1.3.4.2), повторяя каждый анализ не менее трех раз и из полученных результатов вычисляя среднее значение. Одновременно анализируют не более трех растворов, поскольку окраска реакционной смеси меняется при длительном стоянии. По полученным данным строят график зависимости экстинкции реакционной смеси от концентрации фосфора в анализируемом растворе (миллиграмм на дециметр кубический) и определяют уравнение для расчета содержания фосфора фосфатного.

1.3.5. Определение фосфора общего

Реактивы и оборудование: H_2SO_4 ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; Na_2SO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$; аскорбиновая кислота; колбы Кьельдаля емкостью 500 см^3 ; мерные колбы на 50 см^3 ; установка для минерализации; термостат; фотоэлектроколориметр.

Ход анализа. Для определения общего фосфора, связанного как в минеральных, так и в органических соединениях, проводят

предварительную минерализацию. Для этого в колбу Кьельдаля емкостью 500 см³ вносят 25 см³ анализируемых сточных вод, 10–15 см³ концентрированной серной кислоты, 0,78 г CuSO₄ · 5H₂O и 1 г Na₂SO₄. Содержимое колбы перемешивают, закрепляют колбу в установке для минерализации и кипятят до полного обесцвечивания реагирующей смеси.

После минерализации колбу с реакционной жидкостью охлаждают и добавляют 200 см³ дистиллированной воды для растворения солей. Из полученного раствора отбирают 25 см³, переносят в мерную колбу на 50 см³ и нейтрализуют 30%-ным раствором едкого натра в присутствии индикатора метилового красного до светло-желтого цвета. Раствор охлаждают, объем доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Если полученный раствор мутный, то его фильтруют, а потом анализируют на содержание фосфора фосфатного колориметрическим методом (см. п. 1.2.4.2). При расчете концентрации общего фосфора учитывается разбавление в 16 раз.

1.3.6. Очистка сточных вод в аэробных условиях

Перед очисткой измеряют величину рН сточных вод и при необходимости проводят корректировку до значения рН 7. 100 см³ нейтрализованных сточных вод заливают в качалочную колбу емкостью 250 см³, которую помещают в шейкер-инкубатор с рабочей частотой 140 мин⁻¹ при температуре 30°C на 2 сут. После очистки определяют перманганатную окисляемость, БПК, содержание фосфора фосфатного и общего в биологически очищенных сточных водах.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

2.1. Влияние условий анаэробной очистки сточных вод на выход и состав биогаза

Анаэробная очистка сточных вод считается нестабильным и сложным для контроля процессом. Главной причиной этого является недостаток знаний о микробиологии метаногенного биоценоза и приемлемых эксплуатационных данных. В отличие от аэробных для анаэробных процессов характерны более низкие скорости биохимических реакций, повышенная чувствительность к наличию токсикантов, длительность запуска биореактора.

2.1.1. Стадии анаэробного процесса

Анаэробная деструкция загрязнений сточных вод и органических отходов начинается при создании анаэробных условий за счет спонтанного развития микроорганизмов, присутствующих в воде, отходах и окружающей среде, либо за счет инокуляции активным илом стабильно работающего анаэробного биореактора.

Процесс анаэробного превращения органических веществ в биогаз (биометаногенез) протекает через четыре последовательные стадии:

– стадия гидролиза сложных биополимерных молекул (белков, липидов, полисахаридов) на более простые олиго- и мономеры: аминокислоты, углеводы, жирные кислоты и др. Осуществляется экзогенными ферментами, экскретируемыми в ферментационную среду факультативно анаэробными гидролитическими микроорганизмами;

– кислотогенная. На этой стадии образовавшиеся мономеры конвертируются факультативно и облигатно анаэробными бактериями в ряд простых соединений. При расщеплении моносахаридов

образуются органические кислоты и спирты. Глицерол далее утилизируется, а жирные кислоты расщепляются до двухуглеродных органических соединений (например, уксусной кислоты). Продукты расщепления аминокислот зависят от строения углеводородного радикала, основные из них – органические кислоты (муравьиная, уксусная, пропионовая, бутановая, валериановая, изовалериановая). Также образуются молочная кислота, метанол, CO_2 , H_2 , NH_3 и H_2S ;

– ацетогенная стадия. Образовавшиеся на предыдущей стадии продукты конвертируются в ацетат, H_2 , CO_2 . В результате глубокого расщепления аминокислот высвобождаются аммоний и серосодержащие соединения. За счет присутствия аммония увеличивается щелочность среды в биореакторе, однако в высоких концентрациях он может оказывать токсическое воздействие на микроорганизмы;

– метаногенная. На данной стадии H_2 и CO_2 , уксусная и муравьиная кислоты, метанол и другие соединения трансформируются в метан и углекислый газ при помощи строго анаэробных метаногенных бактерий.

2.1.2. Взаимосвязь стадий анаэробного процесса

Процесс анаэробной деструкции загрязнений протекает наиболее эффективно, если скорости деградации субстратов на всех стадиях сопоставимы. Ингибирование стадии гидролиза или большое количество взвешенных и коллоидно-растворенных веществ в поступающей на очистку воде приводит к замедлению поступления субстрата (мономерных веществ) на кислотогенную стадию, и количество продукта последней стадии – метана – неизбежно снижается. Перегрузка анаэробного биореактора по растворенным легкодеградируемым загрязнениям или ингибирование ацетогенной стадии вызывает накопление в биореакторе органических кислот с длинной цепью, спиртов и органических азотсодержащих соединений. Если ингибируется метаногенная стадия, то накапливаются органические кислоты с короткой цепью, продуцируемые на второй и третьей стадиях, уменьшается буферная емкость среды в анаэробном биореакторе, что приводит к снижению в ней значения pH.

Состав поступающих на очистку сточных вод определяет видовое разнообразие метаногенного биоценоза. Условия эксплуатации анаэробного биореактора (температура, значение pH среды,

объемный расход субстрата и др.) влияют на жизнедеятельность микробного сообщества, например преимущественное развитие тех или иных видов бактерий. Эти факторы могут существенно изменять качественный и количественный состав доступных для метанобразующих бактерий субстратов, что в конечном итоге влияет на состав биогаза и его количество.

Наиболее частые нарушения работы анаэробного биореактора связаны с ингибированием метанобразующих бактерий. При нормальном режиме работы органические кислоты с короткой цепью, образующиеся на ацетогенной стадии, нейтрализуются ионами аммония с образованием солей. В результате в биореакторе формируется слабощелочная среда. Аммоний также реагирует с диоксидом углерода и водой, получающийся карбонат аммония обеспечивает буферность системы. Лимитирование стадии конверсии летучих кислот в метан приводит к тому, что метанобразующие бактерии получают очень мало энергии при деградации кислот, она в основном переносится на метан, поэтому прирост биомассы метаногенных бактерий снижается.

Ацетатобразующие бактерии функционируют в симбиотической связи с метанобразующими. Например, при конверсии этанола в ацетат с использованием диоксида углерода образуется молекулярный водород. Избыток водорода, о котором свидетельствует рост его парциального давления, угнетает деятельность ацетатобразующих бактерий. В то же время метанобразующие бактерии используют водород при синтезе метана из диоксида углерода, в результате чего парциальное давление водорода в системе биореактора вновь уменьшается и процесс стабилизируется.

Сульфатвосстанавливающие бактерии нуждаются в том же субстрате, что и метанобразующие, – водороде и ацетате. Однако продуктом их жизнедеятельности является сероводород, который при высоких концентрациях оказывает на метаногенные бактерии ингибирующее воздействие. Поэтому при соотношении ацетат- и сульфат-ионов менее двух сульфатвосстанавливающие бактерии вытесняют метанобразующие, при соотношении же более трех – напротив, преимущество получают метаногены.

2.1.3. Характеристика метанобразующих бактерий

Метанобразующие бактерии – морфологически разнообразная группа микроорганизмов, характеризующихся широким диапазоном

значений удельной скорости роста и различными потребляемыми субстратами. Эти бактерии очень чувствительны к молекулярному кислороду, имеют неригидную клеточную стенку, уникальное строение липидной мембраны, некоторые способны к фиксации молекулярного азота. Ниже приведен элементный состав бактериальных клеток метаногенов (по сухой массе), %: С – 50, О – 20, N – 12, Н – 8, Р – 2, S – 1, К – 1, остальные элементы – 6.

Бактерии этой группы классифицируют в соответствии с их структурой, утилизируемым субстратом, типами синтезируемых ферментов, температурным диапазоном роста. Их активность обычно оценивают по уменьшению концентрации летучих кислот (субстрата) или по выходу метана (продукта). Метанобразующие бактерии очень медленно делятся из-за малого количества энергии, получаемой из ограниченного количества субстратов: водород, формиат, метанол, диоксид углерода, монооксид углерода, диметилсульфид, метиламин, ди- и триметиламины, ацетат.

В соответствии с потребляемым субстратом метанобразующие бактерии делят на три группы:

1) водородотрофные – используют в качестве субстрата водород и диоксид углерода, они менее распространены, чем остальные;

2) ацетотрофные – расщепляют ацетат на метан и диоксид углерода, некоторые используют монооксид углерода и воду. Делятся медленнее, чем водородотрофные, на их жизнедеятельность сильно влияет парциальное давление водорода. Составляют в среднем около 70% метаногенных бактерий анаэробного биореактора;

3) метилотрофные – растут на субстратах с метильной группой (метанол, метиламины), не синтезируют метан из оксидов углерода. Составляют около 30% метаногенных бактерий биореактора.

Культивирование метаногенных бактерий в чистой культуре осложнено из-за строгих требований к анаэробнозю и ограниченному кругу субстратов.

2.1.4. Факторы, влияющие на анаэробный процесс очистки сточных вод

Сложность контроля процесса анаэробной очистки заключается в том, что параметры эксплуатации биореактора взаимосвязаны, и изменение одного из них может прямо или косвенно повлиять на другие. Кроме того, разнообразие групп бактерий тре-

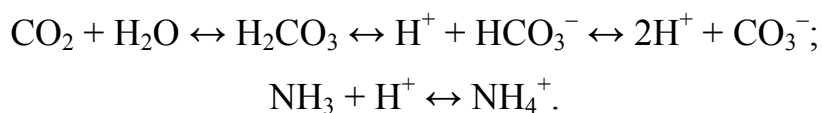
бует создания различных режимов для их оптимального функционирования. Рассмотрим основные параметры, которые влияют на анаэробный процесс.

Значение рН и щелочность. Ферментативная активность бактерий сильно зависит от уровня рН среды. Оптимум рН для метаногенных бактерий 6,8–7,2, при значении рН 6,2 и менее их метаболизм нарушается. В то же время это значение рН считается оптимальным для ацетатобразующих бактерий. Интенсивный синтез ими уксусной кислоты приводит к дальнейшему снижению уровня рН и подавлению потребляющих ее метаногенов, результатом чего является закисление среды в биореакторе.

Кроме того, колебания значения рН могут быть вызваны изменением количества диоксида углерода, а также образующихся при утилизации аминокислот ионов аммония. Положительно и отрицательно заряженные ионы, присутствующие в среде, формируют буферную систему, которая обеспечивает поддержание стабильного значения рН. Поэтому в условиях подкисления среды органическими кислотами (в первую очередь – уксусной) важно знать количество ионов, обеспечивающих ее подщелачивание, – так называемую щелочность.

Если показатель рН отражает процессы, уже произошедшие в биореакторе в недавнем времени, то щелочность, напротив, показывает, что происходит в настоящий момент, и даже позволяет прогнозировать степень стабильности значения рН. Так, снижение щелочности приводит к резким колебаниям уровня рН даже при незначительном изменении концентраций положительно и отрицательно заряженных ионов и может служить индикатором скорого сбоя в работе аппарата.

Щелочность обусловлена в первую очередь присутствием аммиака, находящегося в равновесии с ионами аммония, и бикарбонатов, находящихся в равновесии с диоксидом углерода. Равновесие между этими компонентами зависит от значения рН:



Аммиак растворяется в воде и с диоксидом углерода формирует бикарбонат аммония:



Аммонийные соли органических кислот утилизируются метаногенными бактериями с высвобождением аммиака, который снова участвует в обеспечении щелочности системы.

Часто для достижения устойчивого уровня рН в анаэробный биореактор специально вносят вещества, увеличивающие щелочность. Такой прием особенно необходим в случае, если скорость кислотогенеза превышает скорость метаногенеза (например, при пуске аппарата, перегрузке по органическим веществам, отклонении температурного режима от оптимального и др.).

Для повышения щелочности в основном используют бикарбонаты натрия и калия, которые имеют хорошую растворимость и оказывают минимальное токсическое воздействие на ил, а их передозировка не приводит к значительному отклонению рН выше оптимального.

Может применяться также карбонат кальция, однако в этом случае увеличение значения рН происходит быстро, что неблагоприятно для бактерий, в то время как щелочность возрастает не существенно. Кроме того, передозировка CaCO_3 может привести к превышению оптимального уровня рН. Поэтому карбонат кальция рекомендуется использовать до достижения рН среды не более 6,4, а более тонкую регулировку этого показателя далее осуществляют при помощи бикарбонатов калия или натрия.

Гидроксид кальция и карбонат натрия применяют с осторожностью, поскольку сначала они реагируют с растворенным CO_2 , смещая равновесие, и диоксид углерода переходит из газовой фазы в жидкую. Длительное использование гидроксида кальция может также приводить к накоплению в нижней части биореактора осадка (CaCO_3).

Внесение для регулирования щелочности водного аммония приводит к растворению минеральных осадков (например, бикарбоната кальция). В то же время из-за изъятия диоксида углерода при образовании бикарбоната аммония в биореакторе снижается давление. Еще одним негативным фактором является то, что при повышенном уровне рН значительная концентрация ионов аммония вызывает ингибирование метаногенных микроорганизмов.

Для длительного применения предпочтительно брать смесь катионов, что позволяет нивелировать недостатки отдельных реагентов. При избыточной щелочности системы для ее снижения в среду вносят хлорид или цитрат железа.

Время пребывания (или гидравлического удержания) очищаемых сточных вод (отношение рабочего объема биореактора к объемному расходу поступающих на очистку сточных вод) определяет количество питательных веществ, поступающих в аппарат. В случае накопления в нижней части биореактора минеральных осадков (песка, карбоната кальция) его рабочий объем уменьшается, что приводит к снижению времени обработки (а следовательно, и качества очистки) сточных вод. Во избежание этого осадок периодически удаляют.

Нагрузка по питательным веществам на биореактор чаще всего выражается в единицах химического потребления кислорода на единицу объема биореактора ($\text{кг ХПК}/(\text{м}^3 \cdot \text{сут})$) или на единицу сухой массы активного ила ($\text{кг ХПК}/(\text{кг} \cdot \text{сут})$) в единицу времени. Допустимое значение этого показателя определяется возможностями анаэробного биоценоза. Увеличение нагрузки без снижения степени очистки сточных вод возможно только при обеспечении высокой концентрации биомассы в объеме биореактора.

В современных анаэробных биореакторах используют различные методы удержания биомассы: иммобилизацию на поверхности или в пустотах загрузочного материала, ультрафильтрацию выводимой из аппарата жидкости через синтетические мембраны, применение газоилоотделительных устройств, обеспечивающих формирование в аппарате агрегатов клеток (компактных флокул и гранул) с высокой седиментационной способностью. При этом концентрация биомассы в аппаратах достигает $100 \text{ кг}/\text{м}^3$, что позволяет значительно увеличить допустимую нагрузку по утилизируемым загрязнениям. Так, значение этого показателя составляет, $\text{кг ХПК}/(\text{м}^3 \cdot \text{сут})$: для анаэробных биофильтров с неподвижным слоем загрузки – 5–15; для аппаратов с гранулированной биомассой типа UASB – 20–30; для комбинированных – до 30; с псевдооживленным слоем носителя – до 40. Для сравнения, нагрузка для традиционных метантенков не превышала уровня $0,5\text{--}5,0 \text{ кг ХПК}/(\text{м}^3 \cdot \text{сут})$.

Для более эффективного использования преимуществ гранулированного ила разработаны конструкции анаэробных биореакторов с расширенным слоем (EGSB) и внешней рециркуляцией (ECSB) гранулированного ила.

Температура. Метанобразующие бактерии активны при мезофильных ($30\text{--}35^\circ\text{C}$) и термофильных ($50\text{--}55^\circ\text{C}$) условиях. Даже

незначительное отклонение значений температуры от этих пределов сильно влияет на их метаболизм. В интервале температур 40–45°C деятельность и той, и другой группы значительно подавляется. Для предотвращения появления локальных участков с различающейся температурой содержимое биореактора следует тщательно перемешивать.

При снижении температуры более чем на 3°C необходимо точно контролировать соотношение количества летучих органических кислот и величины щелочности. Это связано с тем, что при пониженной температуре органические кислоты продолжают активно синтезироваться (оптимум для ацетогенов составляет 30°C), в то время как метаногенная активность быстро падает и при температуре 21°C и менее полностью подавляется (в том числе и из-за закисления среды в биореакторе).

Скорость анаэробной деструкции загрязнений существенно больше (на 25–50%) при термофильных условиях, чем при мезофильных. Термофильный режим характеризуется низким приростом биомассы из-за высокой скорости ее эндогенного распада и недостаточной адаптации бактерий к изменению условий среды (количеству питания, температуре, pH). Допустимая скорость изменения температуры составляет не более 1 град/сут для термофильных условий деструкции и не более 2–3 град/сут для мезофильных.

Из-за низкой скорости размножения наиболее подвержены колебаниям температуры метанобразующие, а также ацетогенные бактерии. Гидролитические, напротив, менее чувствительны, и влияние этого показателя на гидролиз взвешенных и коллоидных веществ невелико. Однако при падении температуры происходит значительное снижение активности ферментов, что должно компенсироваться увеличением времени обработки сточных вод.

Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) отражает концентрацию в среде молекул, способных забирать или отдавать электроны (т. е. обладающих окислительным или восстановительным потенциалом соответственно). Величину ОВП определяют с использованием электродметрического pH-метра с милливольт-шкалой. Этот показатель может косвенно свидетельствовать о протекающих в биореакторе биохимических процессах (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Зависимость ОВП от преимущественно протекающего процесса

Показатель ОВП, мВ	Молекула – переносчик электронов	Выводимый из системы продукт	Процесс	Прирост клеточной массы, кг/кг деградированного ХПК
Более +50	O ₂	H ₂ O	Аэробное дыхание	0,4–0,6
От +50 до –50	NO ₂ ⁻ или NO ₃ ⁻	N ₂ или N ₂ O	Денитрификация	0,4
От –50 до –100	SO ₄ ²⁻	S ²⁻ (H ₂ S)	Восстановление сульфатов	0,04–0,10
От –100 до –300	Органические соединения	Летучие органические кислоты	Разные типы брожения	0,04–0,10
Менее –300	CO ₂	CH ₄	Метаногенез	0,02–0,04

Анаэробы деградируют субстрат более эффективно, если окислительно-восстановительный потенциал окружающей их жидкой среды находится в интервале от –200 до –400 мВ.

Биогенные, макро- и микроэлементы. Потребность анаэробных микроорганизмов в макроэлементах определяют расчетным путем либо по остаточным концентрациям их в очищенной воде (если элементы в ней не обнаружены, их нужно вносить дополнительно).

Для количественной оценки органических веществ в сточных водах обычно применяют показатель БПК. Однако при этом оценивают количество растворенного кислорода, требуемого для окисления субстрата, тогда как анаэробные микроорганизмы кислород для этих целей не используют. Кроме того, время обработки субстрата в метантенках (до 12 сут) больше, чем время проведения анализа на определение величины БПК (5 сут). Таким образом, при использовании этого показателя загрязненность воды часто недооценивается, поэтому пользуются показателем ХПК.

Соотношение биогенных элементов (азота, фосфора) и ХПК находится в обратно пропорциональной зависимости от нагрузки на анаэробный биореактор по органическим веществам: соотношения ХПК : N : P = 1000 : 7 : 1 и 350 : 7 : 1 используются для высоконагружаемых и низконагружаемых биореакторов соответственно. При этом среднее соотношение C : N должно составлять

25 : 1, что соответствует наибольшему выходу биогаза. Примерно 10% потребленного ХПК расходуется на построение новой бактериальной массы. В расчетах принимается, что 12% сухого веса клеток приходится на азот и примерно 2% на фосфор. Рекомендуемые остаточные концентрации аммонийного азота и фосфора ортофосфатного в отводимой воде равны 5 и 1–2 мг/дм³ соответственно.

Для обогащения азотом применяются хлорид аммония, раствор аммиака, мочевины. Хотя азот в виде иона аммония предпочтителен для метанобразующих бактерий, они могут получать его из других источников – путем фиксации молекулярного азота или из аланина.

В качестве источника фосфора желателен ортофосфат. Для усвоения серы клетками анаэробных бактерий молекула сероводорода должна быть неионизирована, эта форма типична при значениях рН 6,8–6,9. Для обогащения среды серой пригодны также аминокислоты (цистеин, метионин).

Для метанобразующих бактерий при конверсии ими ацетата до метана обязательными микроэлементами являются кобальт, железо, никель и сера. На активность ферментов этих бактерий влияют также селен, молибден и вольфрам (требуются в следовых количествах). Источником микроэлементов может служить дрожжевой экстракт.

Токсичность. Токсичность тех или иных веществ определяется способностью бактерий адаптироваться к их постоянной концентрации, присутствием других токсичных веществ, изменениями условий эксплуатации биореактора.

Ниже приведены соединения, которые наиболее сильно влияют на процесс анаэробной очистки, и их предельные концентрации, мг/дм³: спирты (изопропанол) – 100–200; аммиак – 1500; ароматические соединения – 20; хлорированные углеводороды – 20; цианиды – 4; тяжелые металлы: железо – 5, медь – 1, цинк – 20; сероводород – 50; азотсодержащие органические соединения (акрилонитрил – 5). В этот список можно также внести катионы кальция, магния, калия и натрия; ПАВ (лаурилсульфат); химические ингибиторы, используемые как консерванты в пищевой промышленности; формальдегид; кислород; альтернативные акцепторы электронов – нитрат- и сульфат-ионы; фармацевтические препараты; растворители; органические кислоты и летучие жирные кислоты с длинной цепью.

Индикаторами токсичности являются снижение продукции водорода, метана, уменьшение щелочности и рН, возрастание концентрации органических кислот. Наиболее часто токсичность обусловлена аммиаком, сульфидом водорода, тяжелыми металлами.

Ионы аммония используются бактериями как источник азота, однако аммиак для них токсичен. С повышением рН количество свободного аммиака увеличивается. Его токсический эффект сравним с таковым для синильной кислоты и сероводорода – все эти соединения токсичны в недиссоциированной форме. Неадаптированные бактерии могут ингибироваться при концентрациях свободного аммиака более 50 мг/дм³. Шоковая нагрузка от присутствия аммиака приводит к быстрому и значительному накоплению органических кислот и скачку рН, как следствие снижается продукция метана.

Бактериальные клетки используют растворенный сероводород как источник серы. Однако при нейтральном значении рН и концентрации более 200 мг/дм³ сероводород начинает оказывать токсическое воздействие на микроорганизмы. Сульфиды в анаэробном биореакторе могут присутствовать в растворимой (сульфид-ионы) либо нерастворимой (сульфиды тяжелых металлов) форме. Последние не могут проникать в бактериальные клетки и по этой причине нетоксичны. Для устранения негативного влияния сульфид-ионов применяют разбавление загрязненного потока, отдельную обработку сульфат- и сульфидсодержащих сточных вод, осаждение сульфидов солями металлов (например, железа), очистку биогаза от сероводорода в случае его рециркуляции.

Токсическое воздействие на клетки бактерий оказывают ионы тяжелых металлов, которые адсорбируются на их поверхности и могут инактивировать ферментные системы, связываясь с тиоловыми группами белков. Для снижения концентрации ионов тяжелых металлов добавляют связывающие их хелатирующие соединения. Металлы, присутствующие в форме нерастворимых солей, оксидов, гидроксидов, сульфидов и карбонатов, недоступны для клеток и потому неопасны. Переводу в нерастворимые формы способствует увеличение рН среды. Так, значительное осаждение карбонатов и сульфидов металлов наблюдается при рН больше 7,5.

Альтернативные акцепторы электронов – нитрат- и сульфат-ионы – могут ингибировать метаногенез из-за повышения ОВП. Поскольку сульфатвосстанавливающие бактерии могут конкурировать

с метанобразующими за субстрат, продукция сероводорода при избытке сульфат-ионов будет преобладать над метангенерацией.

Щелочные металлы (кальций, магний, калий, натрий) обладают стимулирующим эффектом при концентрациях 100–400 мг/дм³, однако при концентрациях более 1500 мг/дм³ начинают ингибировать метанобразующие бактерии. В таких случаях сточные воды необходимо разбавлять.

Короткоцепочечные органические кислоты в неионизированной форме (уксусная, пропионовая, бутановая) при высоких концентрациях обуславливают снижение щелочности и скачок рН. Пропионат токсичен для кислотообразующих и метанобразующих бактерий при концентрации более 5 мг/дм³ в области нейтральных значений рН, что устраняют подщелачиванием среды. Химический состав и структура некоторых длинноцепочечных жирных кислот (капроновой, каприловой, лауриловой, миристиновой, олеиновой) подобна структуре липидных компонентов мембран метанобразующих бактерий. Эти кислоты могут встраиваться в клеточные мембраны, нарушая их проницаемость.

Анализ факторов, влияющих на анаэробные процессы, позволяет определить диапазон их значений, при котором активность метаногенных бактерий оптимальна (табл. 2.2).

Таблица 2.2

**Условия приемлемой активности
метаногенных бактерий**

Факторы	Значения факторов	
	оптимальные	допустимые
Щелочность, мг/дм ³ по СаСО ₃	1500–3000	1000–1500
Состав биогаза, об. %:		
метан	65–70	60–65 и 70–75
диоксид углерода	30–35	25–30 и 35–40
Гидравлическое время удержания, сут	10–15	7–10 и 15–30
рН	6,8–7,2	6,6–6,8 и 7,2–7,6
Температура:		
мезофильный режим	30–35	20–30 и 35–40
термофильный режим	50–56	45–50 и 57–60
Концентрация органических кислот (в пересчете на уксусную кислоту), г/дм ³	50–500	500–2000

Индикаторами нарушения работы анаэробной биосистемы являются изменения количества продуцируемого биогаза и его компонентного состава, уменьшение щелочности и pH, снижение деградации растворимых соединений, увеличение концентрации органических кислот.

Продукция биогаза не так важна, как концентрация в нем метана, поскольку именно метан является конечным продуктом деградации органических соединений. Уменьшение концентрации метана может быть вызвано снижением количества субстрата и нестабильностью работы биореактора. Одновременное уменьшение продукции биогаза и щелочности указывает на подавление деятельности метаногенных бактерий. Снижение продукции метана при отсутствии значительных изменений в щелочности свидетельствует о наличии токсичных соединений, влияющих на метанообразующие и кислотообразующие бактерии.

Для поддержания стабильного функционирования анаэробного биореактора требуется своевременный мониторинг большого количества показателей. Для сточных и биологически очищенных вод ежедневно рекомендуется контролировать объемный расход, ХПК, pH, температуру; еженедельно – щелочность, концентрацию взвешенных веществ, аммонийного азота и органических кислот. Ежедневно контролируют количество биогаза, тогда как компонентный состав биогаза определяют при необходимости (например, при изменении его количества). Другие анализы (компонентный состав сточных вод и биологически очищенной воды) также проводят при необходимости. В период пуска и при нарушениях работы биореактора требуется более высокая частота контроля.

2.2. Лабораторная работа

Очистка сточных вод в анаэробных условиях

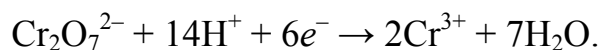
Вопросы для самоподготовки. 1. Сравнительный анализ аэробного и анаэробного методов очистки сточных вод. 2. Основные стадии анаэробной биodeградации загрязнений сточных вод и их взаимосвязь. 3. Характеристика метанообразующих бактерий. 4. Факторы, влияющие на выход биогаза при анаэробной очистке сточных вод. 5. Контроль работы анаэробного биореактора.

Цель работы – освоение методов физико-химического анализа сточных и биологически очищенных вод; практическое ознакомление с процессом анаэробной очистки сточных вод.

Порядок выполнения работы. Установить значение ХПК, концентрацию аммонийного азота и взвешенных веществ, щелочность, окислительно-восстановительный потенциал в исходных сточных водах. Осуществить биологическую очистку сточных вод в анаэробных условиях. Установить значение ХПК, концентрацию аммонийного азота, щелочность, окислительно-восстановительный потенциал в биологически очищенной воде.

2.2.1. Установление ХПК бихроматным ускоренным методом

Метод предназначен для установления количества кислорода, которое необходимо для окисления органических и неорганических веществ, присутствующих в анализируемой воде. В качестве окислителей могут быть использованы бихромат или йодат калия в кислой среде, перманганат калия в кислой или щелочной среде. Значение ХПК, полученное бихроматным методом, является более точным из-за наиболее полного окисления органических веществ. Шестивалентный хром при этом восстанавливается до трехвалентного:



Количество восстановленного хрома эквивалентно количеству кислорода, израсходованному на окисление загрязняющих веществ сточных вод. Его определяют по разнице между исходным и не вступившим в реакцию количеством бихромата. Концентрацию бихромата устанавливают титрованием раствором соли Мора.

Арбитражный бихроматный метод определения ХПК предусматривает кипячение реакционной смеси в течение 2 ч с обратным холодильником и дает наилучшие результаты. Однако для постоянного оперативного контроля работы очистных сооружений более удобен ускоренный метод, в котором взамен длительного кипячения используют серную кислоту высокой концентрации. Значения ХПК, полученные ускоренным методом, хорошо воспроизводимы, но несколько ниже, чем в случае арбитражного. Рекомендуется периодически проводить определение обоими методами для нахождения приблизительного коэффициента пересчета.

2.2.1.1. Установление ХПК ускоренным методом.**Приготовление реактивов:**

а) 0,25 н. бихромат калия;

б) концентрированная серная кислота;

в) 0,25 н. раствор железисто-серноокислого аммония (соль Мора).

В дистиллированной воде растворяют 98 г $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, добавляют 20 см³ концентрированной серной кислоты, охлаждают и доводят объем в мерной колбе до 1 дм³.

Титр раствора устанавливают при каждом использовании. Для этого в коническую колбу вливают 2,5 см³ 0,25 н. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 25 см³ дистиллированной воды, 2 см³ концентрированной серной кислоты. Смесь охлаждают до комнатной температуры, добавляют 3–4 капли индикатора (см. ниже) и титруют раствором соли Мора. Нормальность N , н., рассчитывают по следующей формуле:

$$N = \frac{25 \cdot 0,25}{a},$$

где a – объем 0,25 н. раствора соли Мора, пошедший на титрование, см³.

Рассчитывают поправочный коэффициент K для приведения концентрации раствора соли Мора к точно 0,25 н.:

$$K = \frac{N}{0,25};$$

г) индикатор – *n*-фенилантраниловая кислота. 0,25 г кислоты растворяют в 12 см³ 0,1 н. раствора едкого натра и разбавляют водой до 250 см³.

2.2.1.2. Подготовка пробы. Воду, имеющую значение ХПК более 1000 мг/дм³, разбавляют до величины этого показателя ниже 500 мг/дм³ и на анализ берут 5 см³. При исходном значении ХПК воды от 500 до 1000 мг/дм³ на анализ берут 1 см³.

2.2.1.3. Ход анализа. В коническую колбу с притертой пробкой объемом 100 см³ вливают 1 или 5 см³ анализируемой пробы и при помощи автоматического дозатора (важна точность дозировки!) добавляют 2,5 см³ 0,25 н. раствора бихромата калия. Далее при перемешивании вливают струей 15 см³ концентрированной серной кислоты плотностью 1,84 г/см³. Одновременно проводят холостой опыт, заменяя сточную воду на дистиллированную. Реакционную смесь, которая имеет температуру около 100°C за счет

разбавления кислоты, перемешивают и оставляют на 2 мин. Затем ее охлаждают до комнатной температуры, добавляют 20–30 см³ дистиллированной воды, 10 капель индикатора и при помощи микробюретки титруют 0,25 н. раствором соли Мора. Для более точной фиксации момента изменения окраски индикатора в первую очередь титруют холостую пробу.

Показатель ХПК вычисляют по формуле

$$\text{ХПК} = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 2 \cdot 1000}{g},$$

где a – объем 0,25 н. раствора соли Мора, израсходованный на титрование в холостом опыте, см³; b – объем 0,25 н. раствора соли Мора, пошедший на титрование пробы, см³; K – поправочный коэффициент для приведения концентрации раствора соли Мора к точно 0,25 н.; 2 – количество кислорода, эквивалентное 1 см³ 0,25 н. раствора соли Мора или бихромата калия, мг; g – объем неразбавленной пробы, взятый на анализ, см³.

2.2.2. Установление концентрации аммонийного азота

Метод основан на отгонке аммиака, который присутствует в сточных водах как в свободном виде, так и в виде ионов аммония, из щелочной среды с водяным паром.

Приготовление реактивов:

а) дистиллированная вода, не содержащая аммонийных солей и аммиака. Дистиллированную воду подкисляют, прибавляют к ней перманганат калия и перегоняют либо пропускают ее через слой катионита;

б) фосфатный буферный раствор (рН 7,4). Растворяют в дистиллированной воде, не содержащей аммонийных солей и аммиака, 14,3 г безводного КН₂РО₄ и 68,8 г безводного К₂НРО₄ и разбавляют раствор такой же водой до 1 дм³;

в) 0,01 н. (или 0,1 н.) раствор серной кислоты;

г) 0,01 н. (или 0,1 н.) раствор гидроксида натрия;

д) индикатор смешанный. Смешивают 0,2%-ный спиртовой раствор метилового красного и 0,1%-ный спиртовой раствор метиленового синего в соотношении 1 : 1.

2.2.2.1. Ход анализа. В колбу для перегонки вместимостью 300 см³ помещают 100 см³ анализируемой сточной воды, нейтрализованной до рН 7 по рН-метру (или по индикаторной бумаге),

приливают 25 см³ фосфатного буферного раствора (с целью поддержания требуемого значения рН, а также для предотвращения распада белковых или других азотсодержащих веществ с выделением аммиака, происходящего в более щелочной среде), разбавляют до 200 см³ безаммиачной дистиллированной водой. В приемник (колбу вместимостью 250 см³) помещают 25 см³ 0,01 н. (или 0,1 н. в зависимости от содержания в аммиака в анализируемой пробе) раствора серной кислоты и 4 капли смешанного индикатора.

Колбу с пробой помещают в установку для перегонки аммиака. Конец трубки холодильника должен быть погружен в раствор серной кислоты, находящийся в приемнике.

Аммиак перегоняют из щелочной среды с водяным паром при помощи автоматического парового дистиллятора Behr S3. Устанавливают следующий режим дистилляции: H₂O в пробу 1,0 (время дозирования воды для разбавления в секундах); NaOH 0,0 (время дозирования щелочи натрия в секундах); время дистилляции 360 (время дистилляции в секундах); время реакции 000 (время между окончанием дозирования щелочи натрия и началом дистилляции в секундах); результат 85% (теплопроизводительность испарителя установки, которая определяет массу подаваемого водяного пара); откачать пробу 045 (время откачки дистилляционных остатков в секундах).

По окончании отгонки приемник отсоединяют и титруют отгон 0,01 н. (или 0,1 н.) раствором гидроксида натрия в присутствии смешанного индикатора до перехода окраски от розовой до светло-зеленой.

Аналогично проводят холостой опыт, заменяя сточную воду таким же объемом дистиллированной.

Для более точного определения момента окончания титрования сравнивают цвет титруемой жидкости с цветом раствора сравнения. Для его приготовления в колбу вместимостью 250 см³ помещают 25 см³ 0,01 н. (или 0,1 н.) раствора гидроксида натрия и такой объем дистиллированной воды, чтобы суммарное количество жидкости было равно объему жидкости в приемнике. В раствор добавляют четыре капли смешанного индикатора.

2.2.2.2. Расчет. Содержание аммонийных ионов и аммиака в расчете на ион аммония X , мг/дм³, находят по следующей формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 0,18 \cdot 1000}{V},$$

где a – объем 0,01 н. раствора гидроксида натрия, пошедший на титрование в холостом опыте, см³; b – объем того же раствора, израсходованный на титрование пробы, см³; K – поправочный коэффициент для приведения концентрации раствора серной кислоты к точно 0,01 н.; 0,18 – количество ионов NH₄⁺, эквивалентное 1 см³ точно 0,01 н. раствора серной кислоты, мг; V – объем сточной воды, взятой для анализа, см³.

В случае использования 0,1 н. растворов реагентов при расчете учитывают, что количество ионов NH₄⁺, эквивалентное 1 см³ точно 0,1 н. раствора серной кислоты, равно 1,8 мг.

2.2.3. Установление концентрации взвешенных веществ

Для установления концентрации твердых взвешенных органических и неорганических веществ в пробе воды используется метод, основанный на выделении взвешенных веществ фильтрованием и установлении их количества взвешиванием после высушивания до полного удаления влаги при 105°C. Содержание минеральных веществ в осадке устанавливают после его озоления, а количество органических веществ – по разнице между количеством сухих веществ и пепла.

2.2.3.1. Ход анализа. 50–100 см³ анализируемой воды фильтруют на воронке под вакуумом через плотный фильтр, который предварительно высушивают до полного удаления влаги при 105°C. Фильтр с осадком складывают, переносят в сухой взвешенный бюкс и сушат в сушильном шкафу при 105°C до полного удаления влаги. Высушивание считают законченным, если расхождение между двумя взвешиваниями не превышает 0,0003 г. Рассчитывают концентрацию взвешенных веществ в сточной жидкости $C_{\text{ВВ}}$, мг/дм³, по формуле

$$C_{\text{ВВ}} = \frac{m_{\text{ВВ}} \cdot 1000}{V},$$

где $m_{\text{ВВ}}$ – масса высушенного осадка, мг; V – объем сточных вод, взятый для фильтрования, см³.

Фильтр с высушенным осадком перекладывают в тигель, сжигают его в вытяжном шкафу при включенной вентиляции и ставят для озоления в муфельную печь при 600°C. Во время озоления наблюдают за изменением цвета осадка. При большом количестве органических веществ осадок сначала становится черным, иногда

появляется запах жженных перьев, при незначительном – сначала буреет, а при их отсутствии сразу приобретает белый цвет. Выделение бурого пара в первые минуты озоления осадка наблюдается при высоком содержании солей азотной кислоты. После озоления тигель вынимают из печи с использованием специальных щипцов, охлаждают в эксикаторе, взвешивают и снова ставят в печь на 1 ч. Эти операции повторяют до тех пор, пока разница между двумя последними взвешиваниями будет составлять не более 0,0003 г.

2.2.3.2. Расчет. Содержание неорганических (X_M) и органических (X_O) веществ в составе взвешенных веществ, %, рассчитывают по следующим формулам:

$$X_M = \frac{a \cdot 100}{m_{\text{ВВ}}};$$

$$X_O = 100 - X_M,$$

где a – количество пепла, г.

2.2.4. Очистка сточных вод в анаэробных условиях

2.2.4.1. Периодический режим. Измеряют величину рН сточных вод и при необходимости корректируют до значения 7,0. Для осуществления процесса используют биореактор вместимостью 80–100 см³, оснащенный газоотводной трубкой. Рассчитывают количество сточных вод и анаэробного активного ила (10% от объема очищаемых вод) с учетом коэффициента заполнения биореактора, равного 0,90–0,95.

В биореактор вносят требуемое количество ила и сточных вод, герметично закрывают и помещают в термостат, при этом газоотводную трубку опускают в склянку с водой. Процесс анаэробной очистки проводят в течение 48 ч при температуре 30°C.

В биологически очищенной воде измеряют величину рН, устанавливают значение ХПК, щелочность, концентрацию аммонийного азота, окислительно-восстановительный потенциал.

2.2.4.2. Непрерывный режим. В лабораторный биореактор колонного типа объемом 1,8 дм³ помещают волокнистый носитель в количестве 20–30 г (плотность упаковки 15–20 г/дм³). Носитель закрепляют в биореакторе в виде жгутов с линейным расположением волокна по высоте аппарата. В биореакторе предусмотрена циркуляция жидкости через аппарат по замкнутому контуру: приемник

сточных вод – дозирующий циркуляционный насос – биореактор – приемник (рисунок).

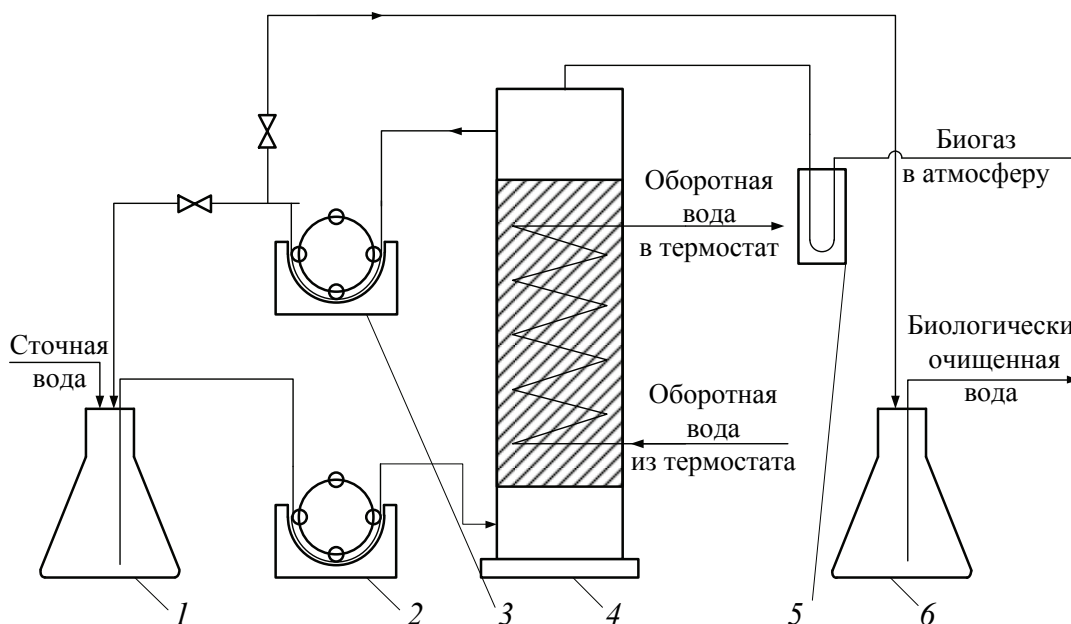


Схема лабораторной установки для анаэробной очистки сточных вод:
 1 – приемник сточных вод; 2, 3 – дозирующие насосы; 4 – биореактор;
 5 – гидрозатвор; 6 – приемник биологически очищенной воды

Для накопления микроорганизмов-деструкторов в естественных условиях и иммобилизации их на носителе сточные воды (рН 6,5–7,0) рециркулируют через термостатированный (30°C) биореактор в течение 2–4 недель, после чего переводят биореактор на непрерывный проток жидкости (скорость потока 0,01–0,05 ч⁻¹). Процесс заканчивают после достижения стабильного уровня показателей загрязненности биологически очищенной воды при заданном протоке жидкости (время стабилизации процесса 7–10 сут).

2.2.5. Щелочность

Щелочностью называется содержание в воде веществ, вступающих в реакцию с сильными кислотами, т. е. с ионами водорода. В содержимом биореактора естественная щелочность обусловлена в основном присутствием ионов аммония и других ионов (CO₃²⁻, S²⁻, PO₄³⁻, анионов летучих и нелетучих слабых кислот).

Кроме того, на буферность системы также влияют ионы минеральных солей, вносимых при эксплуатации промышленных анаэробных биореакторов для регулирования рН.

Поскольку многие из перечисленных выше анионов могут быть определены отдельными специальными методами, то вычитая их содержание из общего содержания ионов, входящих в ту или иную группу, можно при не слишком сложном составе сточной воды более или менее точно вычислить содержание ионов, для которых специальные методы определения отсутствуют.

Приготовление реактивов:

а) 0,1 н. раствор соляной или серной кислоты;

б) индикатор фенолфталеин. Растворяют 1 г фенолфталеина в этиловом спирте и разбавляют раствор до 100 см³ этим же растворителем;

в) индикатор бромфеноловый синий. Растворяют 0,1 г бромфенолового синего в 20%-ном растворе этилового спирта и разбавляют раствор до 100 см³ этим же растворителем.

2.2.5.1. Ход анализа. При повышенной мутности воды ее предварительно фильтруют, при наличии интенсивной окраски – разбавляют дистиллированной водой. Разбавление проводят в мерных колбах емкостью 100 или 200 см³. Сначала наливают в мерную колбу 20–30 см³ дистиллированной воды, затем точно отмеренный объем анализируемой воды. Раствор перемешивают, убеждаются в отсутствии заметной окраски разбавленной пробы, после чего доливают дистиллированной водой до метки.

В коническую колбу для титрования помещают 100 см³ подготовленной воды, приливают 5 капель индикатора фенолфталеина и титруют на белом фоне 0,1 н. раствором соляной или серной кислоты до исчезновения розовой окраски. Израсходованное количество кислоты соответствует щелочности воды по фенолфталеину, т. е. содержанию гидроксил-ионов и анионов, обуславливающих в результате гидролиза в водном растворе рН > 8,4 (ОН⁻, СО₃²⁻ (титруется до НСО₃⁻), S²⁻ (титруется до HS⁻), РО₄³⁻ (титруется до НРО₄²⁻) и др.

В эту же колбу к оттитрованной по фенолфталеину воде приливают 5–6 капель индикатора бромфенолового синего. В другую колбу наливают такой же объем подготовленной воды и столько же индикатора бромфенолового синего, сколько было введено в первую колбу. Ставят обе колбы на белую бумагу и титруют жидкость

в первой колбе кислотой до тех пор, пока цвет ее не станет отличаться от цвета жидкости во второй колбе. Количество кислоты, пошедшее на второе титрование, показывает содержание в воде слабых оснований и анионов относительно более сильных кислот, показывающих в водном растворе $\text{pH} \leq 8,4$ (NH_4^+ , HCO_3^- (титруется до H_2CO_3), HS^- (титруется до H_2S), HPO_4^{2-} (титруется до H_2PO_4^-) и другие). Суммарное количество израсходованного на два титрования раствора кислоты характеризует общую щелочность анализируемой воды.

2.2.5.2. Расчет. По результатам двух титрований рассчитывают щелочность анализируемой воды Щ , мг-экв/дм³:

$$\text{Щ} = \frac{V \cdot c \cdot M}{1000 \cdot V_{\text{пр}}},$$

где V – объем раствора кислоты, пошедшего на титрование, см³; c – концентрация раствора кислоты, моль экв/дм³; M – молярная масса иона, на который пересчитывается щелочность раствора, мг/моль экв; 1000 – пересчет объема раствора кислоты из кубических сантиметров (см³) в кубические дециметры (дм³); $V_{\text{пр}}$ – объем неразбавленной пробы воды, взятой на анализ, дм³.

Результат первого титрования для стабильно работающей системы анаэробного биореактора (рабочий pH около 7) равен нулю. По результатам второго титрования, зная содержание ионов аммония в анализируемой жидкости (см. п. 2.2.2), можно установить суммарное содержание карбоксил-, сульфид- и других ионов, определяемых в этой группе.

2.2.6. Определение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП)

Величина ОВП характеризует преимущественно протекающий в системе биохимический процесс. Определение проводят с использованием pH-метра с милливольт-шкалой либо мультиметра. Электроды прибора погружают в содержимое биореактора и выдерживают до прекращения изменения показаний прибора.

СОСТАВ И СВОЙСТВА АКТИВНОГО ИЛА

Активный ил (АИ) – сложный биоценоз, в состав которого входят организмы разных систематических групп. Для каждого очистного сооружения он имеет свои характерные особенности. Организмы ила обладают способностью реагировать на состав и свойства очищаемых сточных вод, а также на условия жизнеобеспечения, зависящие от конструкции и технологического режима эксплуатации сооружений. При этом изменяется состояние организмов, состав биоценоза и количественное распределение отдельных групп.

Для контроля качества очистки сточных вод на очистных сооружениях измеряют целый комплекс гидрохимических показателей. Однако даже при аварийных сбросах ухудшение этих показателей фиксируется с запаздыванием. Это связано с тем, что при разрушении хлопков и бактериальных клеток биохимическое окисление загрязняющих веществ некоторое время еще продолжается за счет ферментов, вышедших из клеток в иловую смесь. Только после исчерпания этих возможностей эффективность очистки резко ухудшается. Наиболее быстро меняется только прозрачность надливной воды, которая резко падает при разрушении хлопков ила.

В то же время перестройка биоценоза АИ в результате внешних воздействий происходит в течение всего лишь нескольких часов и может быть легко замечена гидробиологом. При этом важно регистрировать не только качественные изменения, так как в состав биоценоза входит значительное число организмов с высокой экологической пластичностью (*Aspidisca costata*, *Rotaria rotatoria*, *Arcella vulgaris*, голые амебы, инфузории родов *Vorticella*, *Opercularia* и др.). Обязательно необходим также количественный учет всех групп организмов.

Своевременная регистрация происходящих в биоценозе изменений позволяет оперативно выявлять неблагоприятные факторы, воздействующие на процесс биологической очистки сточных вод, что важно для эффективного управления процессом.

3.1. Трофические взаимоотношения в биоценозе активного ила

В активном иле присутствуют все основные физиологические группы микроорганизмов, обеспечивающие разложение соединений углерода, азота, фосфора, серы и других элементов. Особенностью ила является отсутствие в нем первичных продуцентов (за исключением хемоавтотрофных бактерий), поскольку органические вещества поступают со сточными водами.

Сложная экологическая система АИ включает организмы, которые находятся на разных трофических уровнях. Для правильной оценки биоценоза ила необходимо охарактеризовать состояние как бактериальных популяций, так и простейших и многоклеточных организмов, составляющих приблизительно 5–10% от общей биомассы.

Первый трофический уровень формируют гетеротрофные бактерии, водоросли, сапротрофные грибы и сапротрофные простейшие.

При сапротрофном способе питания пищей могут служить только растворенные органические соединения. Питательные вещества поступают в организм путем осмоса через поверхность тела. Такой способ питания характерен для бактерий и сапротрофных простейших.

Основная роль в процессах деградации загрязняющих веществ в аэротенках принадлежит гетеротрофным флокулообразующим бактериям. Эти организмы объединены биополимерным гелем в хорошо защищенное и организованное структурно-функциональное целое – хлопок активного ила. Популяции флокулообразующих бактерий составляют в иле 90–95%, и их состояние определяет эффективность биохимического окисления загрязняющих веществ.

Осмотротрофные простейшие также принимают участие в процессе окисления. Однако бактерии по сравнению с ними имеют несомненные преимущества в борьбе за потребляемый субстрат: наименьший размер клеток, большая удельная поверхность, гораздо меньшее время генерации. Поэтому роль простейших усиливается только в случае гибели или угнетения флокулообразующих бактерий либо при избытке органических веществ и снижении конкуренции за субстрат.

Такая ситуация наблюдается в первые недели пуска аэротенков при избытке питательных веществ: сапрозойные простейшие развиваются вместе с бактериями, однако в дальнейшем они начинают вытесняться. В обычных условиях эксплуатации сооружений периодическое повышение численности сапрозойных простейших (например, жгутиконосцев) в биоценозе ила свидетельствует об угнетении звена флокулообразующих бактерий.

Второй трофический уровень представлен голозойными простейшими.

С течением времени из среды извлекается все больше растворенных загрязнений и появляется избыточное количество бактерий.

Это создает предпосылки для появления организмов с голозойным типом питания, которые получают питательные вещества, поглощая цитоплазму других организмов. Одними из первых появляются мелкие жгутиконосцы рода *Vodo*. Захват твердой пищи они осуществляют при помощи органов движения – жгутиков, которые подгоняют пищу (бактерии, коллоидные частицы и т. д.) к участку цитоплазмы, расположенному у основания жгутика. Далее пищевые частицы поступают в пищеварительную вакуоль, в которой и происходит их усвоение.

Ресничные инфузории и саркодовые также обладают голозойным типом питания. Голые амёбы образуют псевдоподии и захватывают пищу путем фагоцитоза. Исключение составляют некоторые роды голых амёб с пиноцитозным способом питания: растворенные вещества поглощаются ими прерывисто через определенные участки клеточной мембраны, а не непрерывно через всю поверхность тела, как у сапрозойных организмов. Раковинные амёбы захватывают пищу длинными псевдоподиями и питаются главным образом бактериями, жгутиковыми и даже инфузориями.

У голозойно питающихся инфузорий имеется ротовое отверстие, глоточный канал, пища по которому подгоняется ресничками. Инфузории питаются бактериями, детритом, а также простейшими.

Третий трофический уровень представляют хищные организмы – отдельные виды малощетинковых червей, хищные коллатерали, сосущие инфузории, тихоходки, хищные грибы.

У сосущих инфузорий ротовой аппарат вторично редуцирован и заменен сосательными щупальцами, при помощи которых они высасывают жидкую эндоплазму жертвы, предварительно оказывая на добычу парализующее действие.

Коловратки питаются бактериями, детритом, а хищные виды – различными простейшими. Пищу они усваивают при помощи сложной пищеварительной системы, состоящей из глотки с жевательным аппаратом, пищеводом, желудком и т. д. Нематоды также обладают хорошо развитой пищеварительной системой, но питаются в основном иловыми частицами, способствуя минерализации активного ила.

Способ питания организмов активного ила определяет их структурное положение в биоценозе и характер взаимоотношений.

3.2. Отклик биоценоза активного ила на внешнее воздействие

Каждый тип биоценоза АИ, развивающийся в очистном сооружении, достаточно стабилен и имеет характерные особенности. Однако под влиянием различных факторов биоценоз может изменяться, при этом может происходить как его усложнение, так и упрощение. В зависимости от интенсивности внешнего воздействия отклик биоценоза выражается в виде флуктуаций и сукцессий.

Флуктуации – краткосрочные незначительные изменения, постоянно происходящие в процессе функционирования АИ. Они происходят под влиянием неблагоприятных факторов, не превышающих порога допустимого воздействия. При этом биоценоз сохраняет способность к самопроизвольному восстановлению под действием механизмов гомеостаза, его тип сохраняется, а скорость и эффективность биохимического окисления загрязнений поддерживаются на определенном уровне.

Резкие или значительные изменения нагрузки на ил по органическим загрязняющим веществам, аварийные сбросы, вывод сооружений из стабильного рабочего режима и т. п. приводят к сукцессиям.

Сукцессия – последовательная замена одного биоценоза другим под влиянием изменения экологических условий обитания. При переходе от одной фазы сукцессии к другой биоценоз претерпевает значительные изменения, что сопровождается его заметной структурной перестройкой, снижением или повышением функциональной активности. Эти изменения в большинстве случаев долгосрочны и приводят к образованию новой модификации ила, наиболее полно отражающей экологические условия, в которых он находится.

Различают первичные и вторичные, прямые и обратные сукцессии.

Первичная сукцессия наблюдается во время запуска очистных сооружений при наращивании активного ила.

Вторичная сукцессия происходит при восстановлении нарушенного биоценоза в результате аварии на сооружениях, когда активный ил разрушается, но не полностью (гибнут только чувствительные виды, а устойчивые сохраняются).

Однако при экстремальном неблагоприятном воздействии может происходить полное разрушение биоценоза (гибнет практически все население АИ). В этом случае восстановление протекает по механизму первичной сукцессии.

Прямая сукцессия – последовательное улучшение, совершенствование биоценоза, увеличение видового разнообразия. При прямых сукцессиях биоценоз усложняется, возрастает его устойчивость к неблагоприятным факторам. В него включаются все более совершенные виды в соответствии со следующей последовательностью: дисперсные бактерии > зооглеи > нитчатые бактерии > бактерии в хлопках ила > сапротрофные грибы > мелкие жгутиконосцы > мелкие голые амебы > мелкие раковинные амебы > крупные раковинные амебы > свободноплавающие инфузории > брюхоресничные инфузории > коловратки > нематоды > прикрепленные инфузории > малощетинковые черви > брюхоресничные черви > сосущие инфузории > тихоходки > хищные коловратки > хищные грибы > водные клещи > другие представители третьего трофического уровня.

Обратная сукцессия – упрощение биоценоза, нарушение его структурной целостности, сокращение разнообразия с увеличением численности устойчивых к неблагоприятным факторам видов. При обратных сукцессиях формируется сообщество с более низким уровнем организации, обеспечивающее худшее качество биологической очистки, но наиболее устойчивое к данным экологическим условиям.

3.3. Уровень развития биоценоза и его деструкционный потенциал

На уровень развития биоценоза и его деструкционный потенциал (способность ила к биохимическому окислению органических

загрязняющих веществ и нитрификации) влияют следующие основные показатели:

- состав сточных вод (трофность, содержание биогенных элементов, присутствие токсичных веществ);
- конструкция очистных сооружений;
- режим их эксплуатации.

Различают три основных типа биоценозов: с низким, средним и высоким деструкционным потенциалом. Однако из-за многофакторности условий развития экосистемы, кроме основных, имеется ряд переходных типов биоценозов с характерными структурными и физиологическими особенностями.

Тип 1. АИ с низким деструкционным потенциалом. Работает на неполное окисление органических загрязняющих веществ. Снижение уровня загрязненности сточных вод по БПК_{полн} не превышает 90%. В биотопе преобладают восстановительные процессы. Окислительная мощность азротенков составляет 1,1–1,5 кг/(м³·сут). Для таких сооружений характерны высокие удельные нагрузки (400–600 мг БПК на 1 г АИ). Экологические условия соответствуют полисапробной зоне водоема (значение БПК₅ – около 40 мг/дм³).

Численность бактерий в хлопьях ила близка к максимальной, присутствует *Zoogloea ramigera*. Наблюдается бедное видовое разнообразие простейших (5–13 видов). Для биоценоза характерно численное преобладание отдельных групп, таких как мелкие жгутиконосцы, мелкие раковинные амебы, крупные свободноплавающие инфузории (доминируют роды *Colpidium* и *Paramecium*). Хищники полностью отсутствуют. Прикрепленные инфузории встречаются редко (как правило, *Vorticella microstoma*). Среди брюхоресничных инфузорий наблюдается в основном *Aspidisca costata*. Все встречающиеся виды обладают широкой экологической пластичностью.

Такой биоценоз характеризуется низкой устойчивостью к неблагоприятным факторам, в нем наблюдаются значительные колебания численности популяций. Так, нарушение баланса сорбции и окисления при перегрузках ила по органическим загрязняющим веществам часто приводит к чрезмерному развитию нитчатых организмов.

Нитрификация в АИ с низким деструкционным потенциалом отмечается редко из-за неполного окисления органических веществ.

Хлопья ила достаточно сформированы, крупные, плотные.

Тип 2. АИ со средним деструкционным потенциалом.

Обеспечивает полное окисление растворенных органических веществ. Наиболее распространен на сооружениях, очищающих сточные воды комбинированного состава (40–50% бытовых, 50–60% производственных). Окислительная мощность сооружений составляет 0,30–1,09 кг/(м³·сут). Удельные нагрузки на активный ил по органическим загрязняющим веществам – 150–500 мг/г (чаще 250–300 мг/г). Экологические условия соответствуют α - и β -мезосапробным зонам водоема (значение БПК₅ – 4–12 и 1,7–4,0 мг/дм³ соответственно).

Биоценоз разнообразен, численность видов простейших и многоклеточных организмов составляет в среднем от 14 до 25. При нормально протекающем процессе очистки в них отсутствуют численно доминирующие виды или такое доминирование минимально. Биоценоз динамичен, подвижен и чутко реагирует на внешнее воздействие.

С повышением содержания растворенных органических загрязняющих веществ нарушается баланс между их сорбцией и окислением и биоценоз деградирует. При этом увеличивается численность бактерий, не связанных с хлопками АИ, и нитчатых организмов, а численность флокулообразующих бактерий снижается. Одновременно сокращается видовое разнообразие простейших, растет численность устойчивых видов (бесцветных жгутиконосцев, раковинных амёб).

В активном иле преобладают свободноплавающие инфузории, прикрепленные формы инфузорий представлены экологически пластичными видами (устойчивы к высоким содержаниям растворенных органических веществ, недостатку кислорода и т. д.), присутствуют коловратки, толерантные к неблагоприятным условиям, черви.

Нитрификация в АИ со средним деструкционным потенциалом, как правило, удовлетворительная, а в летний период значительно развивается (содержание нитратов в очищенных водах более 20 мг/дм³). Численность хищников связана с наличием и интенсивностью процесса нитрификации и при его подавлении снижается.

Переход от биоценоза со средним деструкционным потенциалом к высокому сопровождается следующими закономерностями: улучшение флокулирующих свойств АИ и его способности к седиментации, усложнение структуры и насыщение видами при отсутствии численного преобладания отдельных видов, повышение

стабильности биоценоза и его устойчивости к неблагоприятным факторам, повышение ферментативной активности ила, что в целом обеспечивает высокое качество очистки.

Тип 3. АИ с высоким деструкционным потенциалом. Окислительная мощность аэротенков – 0,01–0,29 кг/(м³·сут). Экологические условия соответствуют β-мезосапробной зоне водоема (значение БПК₅ – 1,7–4,0 мг/дм³).

Формируется наиболее экологически совершенный биоценоз – нитрифицирующий активный ил, который обеспечивает полное окисление загрязнений при низких нагрузках (80–150 мг/г).

Хлопки такого ила крупные, компактные, хорошо оседающие. После отстаивания в лабораторном цилиндре наблюдается их самопроизвольная флотация, вызванная процессами денитрификации.

Биоценоз нитрифицирующего ила характеризуется наиболее сложной экологической структурой с высоким таксономическим разнообразием (до 45 видов простейших) без численного преобладания отдельных видов. Нитчатые бактерии, мелкие бесцветные жгутиконосцы, мелкие формы как голых, так и раковинных амёб практически полностью вытесняются из биоценоза или их численность минимальна. Из инфузорий преобладают брюхожестничные и прикрепленные формы, жизнедеятельность которых тесно связана с хорошо сформированными хлопками ила. Подкласс *Peritricha* представлен богатым разнообразием одиночных (*Vorticella*), колониальных (*Epistylis*, *Zoothamnium*, *Opercularia*, *Carchesium*) родов. Разнообразна фауна раковинных бентосных амёб (роды *Arcella*, *Centropyxis*, *Diffugia*, *Euglypha*). Присутствуют представители высшего звена – хищные коловратки, сосущие инфузории, хищные грибы и черви рода *Chaetogaster*. Периодически встречаются тихоходки.

АИ с высоким деструкционным потенциалом за счет богатого видового разнообразия более устойчив к неблагоприятным воздействиям. Например, при поступлении концентрированных производственных сточных вод биоценоз сохраняет свою структурную целостность и удовлетворительный уровень ферментативного окисления. Разрушение такого биоценоза возможно только при чрезвычайном воздействии: резком возрастании удельной нагрузки на активный ил, поступлении сильно токсичных сточных вод при аварийных сбросах, дефиците и дисбалансе питательных веществ.

3.4. Структура и свойства хлопков активного ила

Наиболее важной характеристикой АИ является способность к образованию хлопков, от которой зависят скорость и полнота осаждения ила, его влагоотдающие свойства. Размеры и структура хлопков изменчивы и зависят от множества факторов. Ил, очищающий высококонцентрированные сточные воды, состоит из мелких, легких хлопков. С понижением концентрации загрязняющих веществ хлопья увеличиваются в размерах. Оптимальной считается структура ила с хлопками среднего размера, имеющими большую поверхность для сорбции загрязнений и в то же время достаточно тяжелыми, чтобы оседать во вторичных отстойниках и не выноситься токами воды в водоем.

Флокуляционные свойства ила тесно связаны с сукцессионной перестройкой в активном иле по мере изменения удельных нагрузок.

При устойчивых нагрузках и прочих благоприятных условиях масса АИ представляет собой хлопья размером от 50–200 мкм. Средняя плотность ила составляет 1,10–1,37 г/см³. Хлопья активно сорбируют питательные вещества, что способствует развитию бактерий именно в их составе, в то время как свободных (диспергированных) бактерий в таком иле практически нет. На поверхности хлопков может находиться незначительное количество слабо связанных с ними одиночных бактерий. Хлопья ила крупные, компактные, хорошо осаждаются во вторичных отстойниках, увлекая за собой мелкие хлопья, что способствует повышению качества очищенных вод. В биоценозе высока численность организмов, непосредственно связанных с хлопьями, – брюхожесничных инфузорий, прикрепленных инфузорий, нематод, колеровок и т. д.

В неблагоприятных условиях (при перегрузках по органическим веществам, поступлении токсичных сточных вод, различных нарушениях технологического режима очистки) возрастает число диспергированных бактерий, а следовательно, и бактериофагов – свободноплавающих инфузорий, мелких раковинных амёб, некоторых видов жгутиконосцев, а также осмотрфно питающихся простейших, которые занимают ниши погибших флокулообразующих бактерий. Хлопья разрушаются, измельчаются, легко выносятся из отстойников, в результате трудно поддерживать

необходимую дозу циркуляционного ила, обеспечивать необходимый возраст активного ила.

Наиболее распространены следующие формы нарушения процесса хлопьеобразования.

Диспергирование хлопков. Хлопки имеют размер 50–100 мкм, компактные, сферические, но недостаточно прочные и легко разрушаются. При отстаивании в цилиндре большие хлопки быстро осаждаются, но в надиловой воде присутствует много мелких диспергированных частиц ила.

Причины: низкая концентрация растворенного кислорода в иловой смеси, недостаточное перемешивание, поступление токсиантов, резкие изменения значения рН и температуры.

Микрофлокуляция хлопков. Хлопки достигают размера не более 10–20 мкм, не агрегируют и не укрупняются.

Причины: наличие в сточных водах токсичных веществ, подавляющих процесс гелеобразования (характерно для целлюлозно-бумажного, фармацевтического, химического производств), низкие нагрузки на ил («голодающий» ил), разрушение хлопков высокоскоростными механическими аэраторами, мощными насосами и т. д.

Флотация хлопков. При отстаивании в цилиндре наблюдаются две фазы. Сначала АИ быстро осаждается, хорошо уплотняется и образует прозрачную надиловую воду. Однако после 1,0–1,5 ч отстаивания ил наполняется пузырьками газа и всплывает. В отстойниках всплывающий ил имеет вид крупных хлопьев с черными краями.

Причина: образование газообразного азота в хлопках на дне отстойников в результате протекания процесса денитрификации.

Гелевое вспухание ила. Наблюдается при избыточном образовании геля флокулообразующими бактериями.

Причина: высокое содержание в сточных водах загрязняющих веществ, устойчивых к биохимическому окислению.

Нитчатое вспухание ила. Обусловлено угнетением и гибелью флокулообразующих бактерий вследствие резкого увеличения численности организмов с нитчатой структурой (хламидобактерий, цианобактерий и мицелиальных грибов). При этом объем ила значительно увеличивается при сохранении или даже сокращении биомассы.

Причины: перегрузка активного ила по органическим веществам, наличие в сточных водах токсичных соединений, недостаток или избыток биогенных элементов, высокое содержание соединений серы, пониженное значение рН (менее 5) и др.

Пенообразование. В аэротенках возникает из-за повышенного содержания моющих средств в очищаемых сточных водах и низкой дозы АИ по массе. Во вторичных отстойниках (возможно и в аэротенках) может происходить при развитии в иле актиномицетов.

3.5. Признаки ухудшения экологических условий функционирования активного ила

Состояние биоценоза АИ при гидробиологическом анализе позволяет оперативно выявить наиболее часто встречающиеся нарушения условий его функционирования.

Признаки дефицита кислорода в иловой смеси. При возрастании нагрузок на ил, воздействии токсичных сточных вод резко увеличивается поглощаемость кислорода иловой смесью. При исследовании легко выявляются признаки угнетения организмов: снижается активность простейших (например, встречаются инфузории рода *Opercularia* с замкнутым ресничным диском), у инфузорий расширяются сократительные вакуоли, у ротового отверстия раздуваются газовые тары (особенно у рода *Peritricha*), колловратки становятся неподвижными, застывают в вытянутом состоянии или сжимаются, быстро погибают.

Наблюдаются также структурные изменения, характеризующие дефицит кислорода в иловой смеси, – массовое развитие толерантных к недостатку кислорода организмов: *Paramecium caudatum*, мелких бесцветных жгутиконосцев, свободноплавающих инфузорий, нитчатых бактерий родов *Thiotrix*, *Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, которые не исчезают при кратковременном увеличении аэрации.

Хлопки ила распадаются, надильовая вода мутнеет.

Признаки голодания АИ. При низких концентрациях питательных органических веществ формируется «голодающий» ил. При этом уменьшаются размеры простейших, особенно прикрепленных, клетки становятся прозрачными и мелкими, исчезают пищеварительные вакуоли, приостанавливается размножение. При дальнейшем голодании организмы образуют цисты. Последними в неактивное состояние переходят колловратки.

Хлопки ила распадаются, мельчают, становятся прозрачными, легкими. Возрастает число бактерий, не связанных с хлопками,

и питающихся ими свободноплавающих инфузорий, мелких раковинных амеб, жгутиконосцев и т. п. В целом для «голодающего» ила характерно низкое видовое разнообразие биоценоза.

Признаки АИ, подвергшегося залповому сбросу токсичных веществ. Происходит резкое уменьшение разнообразия и численности видов. Снижается активность простейших, уменьшается размер тела. У инфузорий прекращается движение ресничек, у перитрих замыкается перистом.

Увеличивается количество одиночных бактерий, нитчатых серобактерий, мелких раковинных амеб. При сильном воздействии токсикантов происходит массовое инцистирование и гибель организмов, вплоть до их полного исчезновения. В этом случае очистка осуществляется только бактериями активного ила. Восстановительный период может продолжаться от 2 недель до нескольких месяцев.

Ил при воздействии токсичных сточных вод характеризуется диспергированием хлопков, вода над илом мутнеет.

Признаки перегрузки АИ. Наблюдается низкое видовое разнообразие биоценоза (5–13 видов), причем все виды с широкой экологической пластичностью. Много свободных нитчатых серобактерий рода *Beggiatoa*. Характеристика перегруженного биоценоза во многом соответствует активному илу с низким деструкционным потенциалом. Хлопки ила мелкие, раздробленные.

После проведения гидробиологического анализа необходимо полученные данные соотнести с данными гидрохимических измерений. В целом полученный комплекс показателей позволяет охарактеризовать состояние процесса биологической очистки, выявить имеющиеся нарушения и дать необходимые рекомендации по их устранению.

3.6. Использование системы сапробности для характеристики качества очистки сточных вод

Степень загрязнения водных объектов органическими веществами определяет их *сапробность* (от греч. *sapros* – гнилой). Гидробионты, живущие в загрязненных органическими веществами водах и принимающие участие в процессах их разложения, называются *сапробионтами* или сапротрофами. К ним относятся бактерии, грибы, отдельные виды водорослей, водные животные.

Видовая структура сообществ гидробионтов в зависимости от их чувствительности к органическому загрязнению водоемов четко выражена на биоценотическом уровне. Исходя из этого немецкие исследователи Кольквитц Р. и Марссон М. предложили оценивать уровень загрязнения вод по наличию в них показательных организмов, или биоиндикаторов сапробности, и классифицировать воды по четырем зонам (ступеням): олигосапробной, α - и β -мезосапробной, полисапробной.

Система сапробности и списки индикаторных организмов в дальнейшем были дополнены рядом исследований. Наиболее полная классификация зон сапробности выполнена В. Сладечком, который включил в нее абиотические зоны, а внутри полисапробной выделил три – изосапробную (преобладание цилиат над флагеллятами), метасапробную (преобладание флагеллят над цилиатами) и гиперсапробную (отсутствие простейших при развитии бактерий и грибов). Характеристика отдельных зон приведена в табл. 3.1.

Происходящие в очистных сооружениях процессы по сути сходны с таковыми при самоочищении водоемов. Ступени очистки протекают последовательно от анаэробного гниения полисапробной к чистоте олигосапробной зоны. Между ними α -мезосапробность выражает нарастание аэробных механизмов деструкции, а β -мезосапробность – завершение этого процесса, свидетельствуя о минерализации.

Использование системы сапробности позволяет получить достаточно быструю и емкую оценку как типа водоема, так и качества функционирования очистного сооружения. Однако результаты гидробиологического анализа, представленные в форме списков индикаторов, всегда содержат виды, относимые к разным зонам сапробности, что усложняет однозначную оценку качества вод. Для преодоления этого затруднения предложены методы, позволяющие оценить среднюю сапробность биоценоза. В настоящее время используют системы, оценивающие качество вод по составу индикаторных организмов, видовому разнообразию и совокупности этих показателей.

3.6.1. Оценка качества очищенной воды по составу индикаторных организмов

Для оценки качества очищения вод по составу индикаторных организмов удобен метод Р. Пантле и Г. Букка, наименее трудоемкий и дающий возможность быстро получать достаточно точный ответ.

Для количественной оценки способности гидробионта обитать в воде с тем или иным содержанием органических веществ используют условное численное значение s_i – индикаторную значимость, или индивидуальный индекс сапробности i -того вида.

Для упрощения подсчетов делают допущение, что каждый вид характеризует одну из зон сапробности. Тогда для каждой произвольной гидробиологической пробы по всем видам, встретившимся в справочниках, можно вычислить средневзвешенный индекс сапробности S , характеризующий степень загрязнения в точке измерения:

$$S = \frac{\sum_{i=1}^n s_i \cdot h_i}{\sum_{i=1}^n h_i},$$

где n – число выбранных видов-индикаторов; s_i – индикаторная значимость вида; h_i – относительное количество особей вида.

Относительное количество особей в каждом объеме пробы, согласно Р. Пантле и Г. Букку, оценивают следующим образом: 1 – единичная встречаемость, 3 – частая встречаемость, 5 – массовое развитие. В. Сладечек прибегает к более дробной детализации: 1 – очень редко, 2 – редко, 3 – нередко, 5 – часто, 7 – очень часто, 9 – массовое развитие. Однако самый точный результат получают при использовании в расчетах фактического количества особей.

Для статистической достоверности результатов необходимо, чтобы в пробе содержалось не менее двенадцати индикаторных организмов с общим числом особей не менее тридцати.

Полученное значение индекса сапробности соответствует определенным зонам сапробности (табл. 3.1) и тесно коррелирует с величиной биохимического потребления кислорода (БПК).

Таблица 3.1

Характеристика отдельных зон сапробности по В. Сладечку

Зона сапробности		Индекс сапробности	Концентрация, мг/дм ³		
обозначение	название		БПК ₅	O ₂	H ₂ S
χ	Ксеносапробная	0,00–0,50	1	8	0
ο	Олигосапробная	0,51–1,50	2,5	6	0
β	β-Мезосапробная	1,51–2,50	5	4	0

Окончание табл. 3.1

Зона сапробности		Индекс сапробности	Концентрация, мг/дм ³		
обозначение	название		БПК ₅	O ₂	H ₂ S
α	α -Мезосапробная	2,51–3,50	10	2	0
ρ	Полисапробная	3,51–4,50	50	0,5	Следы
i	Изосапробная	4,51–5,50	400	Следы	<1
m	Метасапробная	5,51–6,50	700	0	<100
h	Гиперсапробная	6,51–7,50	2 000	0	<10
u	Ультрасапробная	7,51–8,50	120 000	0	0

В тех случаях, когда желательно не только определить степень сапробности данного биоценоза, но и выявить наиболее вероятные отклонения, пользуются *методом средневзвешенных сапробных валентностей М. Зелинки и П. Марвана*. Для уточнения результатов биологического анализа в этом случае введены понятия сапробной валентности и индикаторного значения вида.

Сапробная валентность отражает распределение вида по зонам сапробности. Каждому виду приписывается 10 баллов. В таблице (см. с. 257–263 «Фауна аэротенков: атлас» (А. А. Айсаев [и др.], 1984)) баллы распределяются соответственно тому, насколько вид характерен для той или иной зоны сапробности.

Индикаторное значение (индикаторный вес) вида J показывает, насколько вид ценен как индикатор сапробности. Оно приводится в тех же таблицах в баллах от 1 до 5. Виды, характерные только для одной зоны (все 10 баллов сапробной валентности распределены в одной зоне сапробности), получают 5 баллов и имеют большее значение для оценки качества воды. Низшие баллы получают виды, считающиеся плохими индикаторами, валентности которых равномерно распределены по нескольким зонам сапробности.

Для определения степени сапробности всего биоценоза рассчитывают средневзвешенные сапробные валентности A_k отдельно для каждой из зон сапробности по формуле

$$A_k = \frac{\sum_{i=1}^n a_{ik} \cdot h_i \cdot J_i}{\sum_{i=1}^n h_i \cdot J_i},$$

где n – количество видов с известной сапробной валентностью; a_{ik} – сапробная валентность вида для k -той зоны сапробности;

h_i – величина, характеризующая количество особей вида (может быть выражена в абсолютных числах, условных баллах или в процентных отношениях); J_i – индикаторное значение вида.

Сумма полученных средневзвешенных сапробных валентностей равна 10, а их соотношение характеризует картину сапробных условий в биоценозе. Биоценозу присваивают степень сапробности, соответствующую зоне с максимальной средневзвешенной сапробной валентностью, остальные показатели определяют возможность отклонений. Например, при расчете получены следующие значения: для ксеносапробной зоны – 0,5; для олигосапробной зоны – 5,2; для β -мезосапробной зоны – 2,8; для α -мезосапробной зоны – 1,5. Следовательно, биоценоз соответствует олигосапробной зоне, но при ухудшении условий обитания возможны отклонения в направлении β -мезосапробной зоны.

Системы оценки качества очищенной воды по индикаторным организмам имеют следующие недостатки:

1) не учитывается способность вида к адаптации в изменившихся условиях, поэтому некоторые организмы в работах различных авторов попадают в разные категории сапробности;

2) недостаточно исследовано действие на организмы отдельных факторов (низкое содержание O_2 , действие CO_2 , H_2S , NH_3 и других производных распада органического вещества), внутривидовой и межвидовой конкуренции и т. д.;

3) системы учитывают только загрязнение органическим веществом, подвергающимся бактериальной деструкции. Для учета влияния токсичных органических и неорганических соединений промышленных вод делают попытки разработать шкалы токсобности и создать единую шкалу сапротоксобности;

4) списки показательных организмов составлены для Центральной Европы и не всегда применимы для других регионов, в которых отдельные виды могут приобретать совершенно иное индикаторное значение;

5) невозможна статистическая обработка полученных результатов из-за отсутствия точной количественной методики, сложно их сопоставить с данными химического и бактериологического анализов.

Кроме того, оценка качества очищенной воды по индикаторным организмам на очистных сооружениях часто затруднена ввиду отсутствия современных определителей для многих групп гидро-

бионтов, несовершенства оборудования для взятия проб и их исследования, недостатка квалифицированных специалистов и т. п.

Тем не менее принцип оценки качества воды и происходящих в ней изменений по составу организмов-индикаторов прошел длительную проверку практикой и сохраняет свое значение в настоящее время, особенно при контроле работы аэробных очистных установок.

3.6.2. Оценка состояния биоценоза по видовой структуре

Индекс Шеннона. Для характеристики биоценозов очистных сооружений наиболее часто употребляется индекс видового разнообразия Шеннона H , который рассчитывают по формуле

$$H = - \sum_{i=1}^n p_i \cdot \log_2 p_i = \frac{- \sum_{i=1}^n p_i \cdot \lg p_i}{\lg 2},$$

где n – число видов в пробе; $p_i = x_i / x$ – доля i -того вида в сообществе; x_i – число особей, относящихся к i -тому виду; x – общая численность особей в пробе.

Индекс Шеннона обладает следующими свойствами:

– если в пробе присутствует только один вид, индекс принимает минимально возможное значение ($H = 0$);

– при заданном количестве видов n и равномерном распределении особей по видам индекс максимален ($H = H_{\max} = \log_2 n$);

– при заданном количестве видов n и неравномерном распределении особей по видам индекс лежит в диапазоне $0 < H < \log_2 n$.

При оценке работы очистных сооружений рост индекса Шеннона говорит об увеличении численности видов и равномерном распределении особей по видам, что свидетельствует об улучшении условий и повышении качества очистки сточных вод.

Однако индекс Шеннона надежно фиксирует только катастрофические изменения в биоценозе (максимальное количественное доминирование одного-двух видов), и его применение для изучения незначительных колебаний в экосистеме ила затруднительно.

Для того чтобы сделать выводы о специфике неблагоприятного воздействия на активный ил, желательно рассматривать порознь видовое богатство биоценоза и относительное обилие видов. Поэтому все большее распространение приобретает оценка состояния активного ила при помощи модифицированного индекса *Cuba*.

Модифицированный индекс Ciba D_m рассчитывают по формуле

$$D_m = n + Y_m,$$

где n – количество видов; Y_m – величина, связанная с распределением организмов по видам.

Для вычисления Y_m необходимо сначала определить величину Y :

$$Y = 1 - \frac{1}{2 \cdot x} \sum_{i=1}^n \left| \frac{x}{n} - x_i \right|,$$

где $x = \sum_{i=1}^n x_i$ – общее количество всех видов, присутствующих в биоценозе; x_i – количество организмов i -того вида.

Величину Y_m рассчитывают по формуле

$$Y_m = \frac{1}{1 - \frac{1}{n}} \cdot \left(Y - \frac{1}{n} \right).$$

Диапазон возможного изменения индекса *Ciba* – $n < D_m < (n - 1)$.

Целая часть индекса $[D_m]$ совпадает с количеством видов в биоценозе:

$$[D_m] = n.$$

Дробная часть $\{D_m\}$ показывает равномерность распределения организмов по видам. Для модифицированного индекса *Ciba* $\{D_m\}$ не зависит от количества видов и заключена в диапазоне $0 < \{D_m\} < 1$.

Результаты многолетних наблюдений за работой различных городских сооружений биологической очистки позволили сделать следующие выводы:

1) если $\{D_m\}$ находится в диапазоне $0 < \{D_m\} < 0,2$, то можно судить о минимальной выравненности и максимальном доминировании одного или двух видов в биоценозе, что характеризует сильное разрушение активного ила;

2) в диапазоне $0,2 < \{D_m\} < 0,4$ происходит последовательное выравнивание обилия видов, и основная численность особей распределяется по достаточно большой доле видов (порядка половины всех видов);

3) диапазон $0,4 < \{D_m\} < 1$ соответствует практически равномерному распределению количества особей по видам (максимальной их выравненности) и характеризует благополучие условий функционирования биоценоза.

В настоящее время еще не разработана общепринятая система биологического контроля, позволяющая надежно оценивать эффективность работы станций биологической очистки. Это связано с особыми условиями существования искусственных биоценозов, формирующихся в очистных сооружениях. Однако, несмотря на это, представляется перспективным использование биологических индексов для характеристики качества очистки сточных вод.

3.7. Лабораторная работа

Гидробиологический анализ активного ила

Вопросы для самоподготовки. 1. Трофические взаимоотношения в биоценозе активного ила. 2. Отклик биоценоза активного ила на внешнее воздействие. 3. Уровень развития биоценоза и его деструкционный потенциал. 4. Структура и свойства хлопков активного ила, формы нарушения процесса хлопьеобразования и их причины. 5. Признаки ухудшения экологических условий функционирования активного ила. 6. Оценка качества очищенной воды по составу индикаторных организмов: методы Пантле и Букка, Зелинки и Марвана. 7. Оценка состояния биоценоза по видовой структуре: индекс Шеннона, модифицированный индекс *Cuba*.

Цель работы – оценка состояния и структурных особенностей биоценоза активного ила; определение типа биоценоза.

Порядок выполнения работы. Визуально исследовать ил. Определить иловый индекс. Оценить состояние хлопка активного ила. Установить видовой состав биоценоза активного ила. Определить численность организмов различных видов. Оценить физиологическое состояние организмов активного ила. Определить размеры организмов. Классифицировать организмы активного ила по индикаторным группам. Определить тип биоценоза и его характерные особенности.

3.7.1. Визуальное исследование ила

3.7.1.1. Определение динамики осаждения и поведения ила при отстаивании. Иловую смесь с температурой лабораторного помещения тщательно перемешивают и помещают в стеклянный цилиндр вместимостью 1 дм³, установленный на горизонтальную поверхность. Отмечают объем, занимаемый оседающей

массой активного ила, с интервалом 3 мин (по секундомеру). Через 30 мин отстаивания записывают окончательный объем, занимаемый осевшим илом, округляя до целых. Полученное значение используют для определения дозы ила по объему (см. п. 3.7.2.2).

По полученным данным строят график динамики осаждения. Делают вывод о скорости седиментации хлопка (быстро, медленно), отмечают минимальное время, за которое осаждается основная масса хлопков.

Фиксируют особенности процесса уплотнения ила: характер границы между осевшим илом и надилловой водой (четкая, размытая), равномерность осаждения (общей массой, с разрывом иловой массы), способность хлопков к флокуляции (компактные, диспергированные), отмечают наличие вспухания ила.

3.7.1.2. Определение цвета иловой суспензии. Фиксируют цвет иловой суспензии (бурый, рыжеватый, черный, белесый, зеленоватый и т. д.). Нормальный цвет ила – буро-коричневый. Темный, землистый ил с черным оттенком может быть следствием низкого уровня аэрации, плохого перемешивания иловой смеси, недостаточного удаления избыточного ила, нарушения циркуляции, что ведет к залеживанию и загниванию ила. Зеленоватый оттенок ила может быть обусловлен развитием цианобактерий при поступлении сточных вод, содержащих токсичные вещества. Белесый цвет характерен для «голодающего» ила.

3.7.1.3. Определение характера воды над осевшим илом.

Материалы и оборудование: цилиндр Снеллена (с прозрачным дном) диаметром 50–70 мм, вместимостью 1 дм³, градуированный от самого дна, длина шкалы 400 мм, цена деления шкалы 10 мм; склянки вместимостью 2 и 5 дм³; сифон, изготовленный из стеклянных трубок, соединенных резиновой трубкой; шриффт Снеллена № 1; штатив.

Принцип метода заключается в визуальном определении светопропускания через столб надилловой воды. Мерой прозрачности служит высота столба воды, выраженная в сантиметрах, при которой можно читать шриффт определенного размера и типа.

Прозрачность определяется в пробе, отобранной в конце зоны аэрации или в сборном канале аэротенков.

Отобранную пробу иловой смеси с температурой лабораторного помещения тщательно перемешивают, помещают в склянку вместимостью 1,0–1,5 дм³ и отстаивают в течение 2 ч. Для обеспе-

чения равномерного осаждения ила каждые 30 мин сосуд поворачивают вокруг вертикальной оси. По окончании отстаивания среднюю часть надильной воды при помощи сифона отбирают в цилиндр Снеллена. При этом следят, чтобы сифон не касался стенок склянки или осадка и не захватывал плавающие на поверхности частицы. Первую порцию отбираемой воды, равную объему сифона, отбрасывают.

Наполненный до краев цилиндр Снеллена закрепляют в штативе над стандартным шрифтом Снеллена № 1 на расстоянии 2 см. Чтение шрифта проводят в хорошо освещенной комнате, избегая попадания прямых солнечных лучей. Высоту столба жидкости постепенно уменьшают, отбавляя воду из цилиндра, до того момента, когда шрифт можно будет прочесть. Полученное значение прозрачности надильной воды фиксируют.

Значение погрешности при диапазоне измерений прозрачности от 1 до 30 см составляет $\pm 10\%$.

Надильная вода должна быть прозрачной, не иметь окраски и опалесценции. Показатель прозрачности коррелирует с уровнем БПК в отстаивной пробе и характеризует эффективность удаления коллоидных веществ в аэротенках. Прозрачность городских сточных вод на входе в очистные сооружения находится в пределах от 1 до 5 см. Для очищенных вод при неполной биологической очистке этот показатель должен составлять не менее 12 см, при полной очистке – 30 см и более. Диспергирование хлопков ила и появление большого числа свободноживущих бактерий, вызванные изменениями в составе сточных вод и режиме очистки, ведут к уменьшению прозрачности.

3.7.1.4. Определение запаха иловой суспензии. Определяют характер запаха иловой суспензии (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Определение характера запаха

Характер запаха	Пример описания рода запаха
Аптечный	Лекарственных средств
Ароматический	Огуречный, цветочный
Болотный	Илистый, тинистый
Гнилостный	Фекальный, сточный
Древесный	Запах мокроты щепы, древесины
Землистый	Прелый, свежеспаханной земли
Нефтепродуктов	Бензина, керосина

Окончание табл. 3.2

Характер запаха	Пример описания рода запаха
Рыбный	Рыбьего жира, рыбы
Травянистый	Сена, скошенной травы
Химических веществ	Сероводорода, хлорфенола и др.
Неопределенный	Не подходящий под предыдущие определения

Нормальным запахом ила считают болотный, без преобладания других запахов.

3.7.1.5. Определение других показателей иловой суспензии.

При необходимости в описание включают также и другие показатели: наличие следов нефти, пены от синтетических моющих средств и др.

3.7.2. Определение илового индекса

Для характеристики седиментационных свойств АИ используют показатель илового индекса. Для вычисления илового индекса необходимо определить дозу активного ила по массе и по объему.

3.7.2.1. Определение дозы активного ила по массе. 100 см³ тщательно перемешанной иловой смеси с температурой лабораторного помещения фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный бумажный фильтр с помощью водоструйного насоса через воронку Бюхнера. Цилиндр тщательно споласкивают небольшим количеством дистиллированной воды, полученную суспензию присоединяют к иловой смеси. Фильтр с отфильтрованной массой высушивают до достижения постоянной массы.

Дозу ила по массе d , г/дм³, рассчитывают по формуле

$$d = \frac{(a - b) \cdot 1000}{V},$$

где a , b – вес фильтра с осадком и без осадка соответственно, г; V – объем отфильтрованной пробы, см³.

Погрешность измерения составляет $\pm 25\%$.

3.7.2.2. Определение дозы активного ила по объему. Доза ила по объему V , см³/дм³, характеризует седиментационные свойства ила. Иловую смесь с температурой лабораторного помещения тщательно перемешивают и помещают в стеклянный цилиндр вместимостью 1 дм³, установленный на горизонтальную поверх-

ность. Через 30 мин отстаивания записывают значение дозы ила по объему в сантиметрах кубических, округляя до целых. Погрешность измерения составляет $\pm 25\%$.

При температуре выше 25°C может произойти всплывание осевшего активного ила вследствие денитрификации, поэтому анализ проводят в прохладном помещении, вдали от источников тепла, а в жаркое время года пробу перед анализом желательно охладить до $18\text{--}20^{\circ}\text{C}$ в холодильнике.

3.7.2.3. Расчет илового индекса. *Иловой индекс* – объем, занимаемый 1 г сухого ила через 30 мин отстаивания в цилиндре вместимостью 1 дм^3 . Иловой индекс I , $\text{см}^3/\text{г}$, находят как отношение дозы ила по объему V к дозе ила по массе d :

$$I = \frac{V}{d}.$$

Пониженные значения илового индекса (менее $80\text{ см}^3/\text{г}$) характерны для активного ила с высокой зольностью, вызванной высокой минерализацией клеточного вещества или присутствием тяжелых взвесей. Ил с такими показателями может закупоривать коммуникационные сети. Возрастание илового индекса – показатель ухудшения седиментационной способности ила. Результатом является нарушение разделения иловой смеси во вторичных отстойниках и избыточный вынос взвешенных веществ с отстоянной водой. Стабильность значений илового индекса указывает на удовлетворительные условия эксплуатации очистных сооружений. Для различных сооружений биологической очистки характерны свои определенные значения этого показателя. Оптимальными считают значения илового индекса в пределах $80\text{--}120\text{ см}^3/\text{г}$, при таких показателях ил хорошо оседает. При значениях илового индекса $120\text{--}150\text{ см}^3/\text{г}$ ил оседает удовлетворительно, больше $150\text{ см}^3/\text{г}$ – плохо, что может свидетельствовать о развитии процесса вспухания активного ила.

Значение погрешности результатов измерений в диапазонах значений илового индекса $10\text{--}100$, $100\text{--}300$, $300\text{--}500$, $500\text{--}980\text{ см}^3/\text{г}$ не превышает 25, 12, 10 и 6% соответственно.

3.7.3. Определение состояния хлопка активного ила

Материалы и оборудование: микроскоп «Биологический»; предметные и покровные стекла; автоматические дозаторы достоинством $0,02\text{--}0,20\text{ см}^3$; объект-микrometer; окуляр-микrometer; фотоаппарат.

Состояние хлопка исследуют при микроскопировании взболтанной пробы. Каплю свежего ила наносят на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом при увеличении $\times 40$, $\times 100$.

Визуально фиксируют размер хлопка (крупный, мелкий). При необходимости определяют точные размеры хлопков с применением объекта-микрометра, окуляра-микрометра, можно воспользоваться также методом фотографирования (см. п. 3.7.7).

Структуру хлопка (плотный, рыхлый, прозрачный), его однородность, засоренность минеральными и посторонними органическими включениями определяют при увеличении микроскопа $\times 100$, $\times 400$.

Наличие большого количества детритных включений может быть следствием нарушения работы первичных отстойников (избыточный вынос взвешенных веществ), поступления в «голову» очистных сооружений избыточного активного ила, сточных вод низкого качества из минерализатора, иловой воды из илоуплотнителей, фугата из цеха обработки осадков, дренажных вод. Этот показатель может указывать также на присутствие в сточных водах специфических промышленных загрязняющих веществ, плохо удаляемых при механическом отстаивании. Однако если сооружения не перегружены и качество очистки высокое, а иловой индекс характеризует хорошее отделение очищенной жидкости от массы ила, то присутствие некоторых количеств детритных включений не играет отрицательной роли, а в некоторых случаях, наоборот, утяжеляет хлопок ила, улучшая его седиментацию.

3.7.4. Определение видового состава биоценоза активного ила

Реактивы, материалы и оборудование: микроскопы «Биологический», люминесцентный, фазовоконтрастный; чашки Петри; предметные и покровные стекла; автоматические дозаторы достоянством 0,02–0,20 см³; объект-микрометр; окуляр-микрометр; фиксатор Утермеле; глицерин; 96%-ный этиловый спирт; формалин, 4–10%-ный водный раствор; уксусная кислота, 0,1%-ный водный раствор; сульфат никеля, 1%-ный водный раствор; нейтральный красный индикатор, 0,01%-ный раствор в 60%-ном этиловом спирте; раствор Люголя на глицерине; жидкость Люголя; метиленовый голубой, 0,5%-ный водный раствор; акридиновый оранжевый гидроклорид; йод, 0,3%-ный и 1%-ный спиртовые растворы;

метиловый зеленый, 0,05%-ный водный раствор; метил-грин-уксусная кислота.

Приготовление реактивов:

а) фиксатор Утермеле. В 20 см³ дистиллированной воды с 5 г дважды сублимированного йода растворяют 10 г йодида калия, добавляют 50 см³ дистиллированной воды и 5 г уксуснокислого натрия. Полученный раствор хранят не более месяца в склянке из темного стекла с притертой пробкой;

б) раствор Люголя на глицерине. Растирают в ступке 1 г кристаллического йода и 2 г йодистого калия с добавлением 3 см³ дистиллированной воды и небольших порций глицерина. Постепенно добавляют глицерин, доводя объем до 100 см³;

в) жидкость Люголя. Растирают в ступке 1 г кристаллического йода и 1 г йодистого калия с небольшим количеством дистиллированной воды. Прибавляя воду, доводят объем до 300 см³;

г) акридиновый оранжевый гидрохлорид. Растворяют 3 мг акридинового оранжевого в 10 см³ дистиллированной воды. Раствор готовят непосредственно перед окрашиванием;

д) метил-грин-уксусная кислота. 0,5 г метиленового зеленого растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Полученный раствор экстрагируют хлороформом в течение 2–3 сут. Окрашенный слой хлороформа многократно сливают до полного прекращения окрашивания. В отстоянный водный раствор добавляют 1 см³ ледяной уксусной кислоты.

Организмы активного ила определяют в живом виде с помощью световой, люминесцентной, фазово-контрастной микроскопии.

Каплю свежего ила наносят на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом при увеличении $\times 100$. В случаях, когда диагностические признаки трудно различимы, используют большие увеличения (например, $\times 400$) и иммерсионную систему (объективы $\times 90$, $\times 100$). Исследование более крупных организмов (червей, коловраток) можно выполнять, помещая пробу ила в чашку Петри.

При высокой концентрации ила производят его разбавление. Чтобы не нарушать жизнедеятельность организмов, разбавлять пробу следует жидкостью, полученной из того же места, что и проба.

Рекомендуется просматривать до 5–10 препаратов, определяя виды организмов и отмечая их физиологическое состояние.

В ряде случаев при установлении видового состава биоценоза очистных сооружений необходимы фиксация и окрашивание организмов, их измерение, зарисовка и фотографирование.

3.7.4.1. Консервация и хранение проб активного ила. Для консервации используют жидкость Утермеле (3 капли фиксатора на 100 см³ пробы). Хранение пробы допускается только для уточнения определения каких-либо видов, но не для гидробиологического заключения о состоянии биоценоза активного ила.

3.7.4.2. Фиксация организмов активного ила. Если определению мешает повышенная активность организмов, их следует фиксировать.

Для замедления движения всех организмов, включая червей и коловраток, к капле иловой смеси на предметном стекле добавляют каплю глицерина, тщательно перемешивают препаровальной иглой, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Оптимальное количество глицерина подбирают опытным путем после 2–3-кратного повторения процедуры.

Для фиксации гидробионтов 1–2 капли этанола или 4–10%-ного водного раствора формалина наносят рядом с покровным стеклом и дожидаются, когда реагент диффундирует в каплю иловой смеси, находящуюся под стеклом. Не следует допускать передозировки реагентов, так как организмы могут сильно деформироваться, что затрудняет исследование.

Для фиксации коловраток используют 1%-ный водный раствор сульфата никеля.

Жгутиконосцев фиксируют 0,1%-ным раствором уксусной кислоты. Применение раствора Люголя на глицерине, жидкости Люголя позволяет, кроме фиксации, обеспечить также контрастирование мелких жгутиконосцев.

Не следует подсушивать препараты для остановки движения организмов, так как при этом происходит значительное искажение их формы, что затрудняет определение и оценку физиологического состояния животных.

3.7.4.3. Окрашивание препаратов активного ила. Производят для уточнения родовой и видовой принадлежности организмов.

Окрашивание жгутиконосцев. Наибольшие трудности возникают при определении и счете мелких жгутиконосцев из-за их малых размеров и активного движения. Окрашивание красителями, приводящими к гибели жгутиконосцев, не позволяет рассмот-

реть их вовсе. Поэтому для исследования этих организмов следует использовать витальные красители:

– нейтральный красный (0,1%-ный водный раствор) – для растительных жгутиконосцев;

– метиленовый синий – для животных жгутиконосцев;

– акридиновый оранжевый (дает наилучшие результаты при окрашивании цитоплазмы всех видов жгутиконосцев). Краситель обладает флуоресцентными свойствами, поэтому при исследовании обработанных им препаратов используют люминесцентный микроскоп.

Жгутики флагеллят хорошо видны в жидкости Утермеле, 0,3%-ном водном или 1%-ном спиртовом растворе йода. Следя под микроскопом за тем, чтобы жгутиконосцы оставались в поле зрения, протягивают под покровным стеклом реактив при помощи полосок фильтровальной бумаги. При этом жгуты и клетки окрашиваются в коричневый цвет, крахмал – в синий, параamilон йодом не окрашивается.

Ядра жгутиконосцев хорошо выявляются при фиксации их 0,1%-ным раствором уксусной кислоты.

Окрашивание инфузорий. Живых инфузорий подкрашивают, используя витальные красители: нейтральный красный хорошо прокрашивает пищеварительные вакуоли, метиленовый зеленый – ядерный аппарат и отчасти цитоплазму.

Для окрашивания ядер используют акридиновый оранжевый. В 100 см³ иловой смеси вносят 1 см³ раствора красителя и тщательно перемешивают. Нуклеиновые кислоты ядер (ДНК) окрашиваются в зеленый цвет, нуклеиновые кислоты ядрышек и цитоплазмы (РНК) – в красный. Микроскопируют с использованием люминесцентного микроскопа. При избытке красителя макронуклеус не выделяется четко, а избыточное свечение препарата затрудняет счет всех таксономических групп организмов.

Для окрашивания ядер можно добавлять к исследуемой капле иловой смеси одну каплю 5%-ного раствора уксусной кислоты. Инфузории при этом погибают, и ядра становятся видимыми.

Методику окрашивания метил-грин-уксусной кислотой используют для окрашивания ядер с одновременной фиксацией инфузорий. Ядерный аппарат приобретает темно-зеленый цвет, цитоплазма становится светло-зеленой, видны наружные реснички.

Окрашивание водорослей. Хроматофоры водорослей окрашивают акридиновым оранжевым.

Функциональное состояние водорослей на разных этапах очистки также оценивают при помощи акридинового оранжевого. Живые клетки микроводорослей окрашиваются в ярко-красный цвет, водоросли с угнетенным процессом фотосинтеза дают оранжево-розовую люминесценцию.

Идентификацию организмов производят согласно следующим работам: «Фауна аэротенков: атлас» (А. А. Айсаев [и др.], 1984), «Методическое руководство по контролю процесса биологической очистки сточных вод: учеб.-метод. пособие» (Р. М. Маркевич [и др.], 2009), «Активный ил: база данных» (Е. А. Флюрик [и др.], 2009).

3.7.5. Определение численности организмов различных видов

Материалы и оборудование: микроскоп «Биологический»; предметные и покровные стекла; автоматические дозаторы достоянством 0,02–0,20 см³.

3.7.5.1. Определение количества гидробионтов по балльной системе. Принцип определения заключается в оценке относительной численности организмов активного ила по условной балльной шкале.

Каплю тщательно перемешанной суспензии активного ила объемом около 0,1 см³ помещают на предметное стекло и накрывают покровным стеклом (желательно размером 24×24 мм). Препарат микроскопируют при увеличении ×40 или ×100, детали рассматривают при больших увеличениях. Просматривают 40 полей зрения, перемещая препарат зигзагообразно, стараясь охватить весь материал. Из каждой пробы отбирают не менее двух капель суспензии.

Учитывают все встречающиеся организмы. Оценивают относительную численность гидробионтов по условной 5-балльной шкале (табл. 3.3) либо, если данные используют в дальнейшем для математической обработки, по шестиступенчатой 9-балльной шкале (табл. 3.4).

Таблица 3.3

Оценка численности гидробионтов по 5-балльной системе

Частота встречаемости	Условные баллы встречаемости
Единично	1
Мало	2
Порядочно	3
Много	4
Масса	5

Таблица 3.4

Оценка численности гидробионтов по 9-балльной системе

Частота встречаемости	Доля вида в общем количестве экземпляров, %	Условные баллы встречаемости
Очень редко	1	1
Редко	1–3	2
Нередко	4–10	3
Часто	10–20	5
Очень часто	20–40	7
Масса	40–100	9

Метод позволяет достаточно быстро, за 10–15 мин, просматривать каждую пробу, и его удобно применять при массовых анализах активного ила. Однако полученные результаты субъективны, отличаются невысокой точностью и могут быть надежными только при достаточной квалификации исполнителя.

3.7.5.2. Определение абсолютного количества организмов различных видов в единице объема.

Подсчет организмов активного ила методом «откалиброванной капли». Метод является одним из наиболее удобных в практической работе.

Микропипеткой отбирают 0,1 см³ тщательно перемешанной иловой смеси, наносят каплю на предметное стекло и накрывают покровным стеклом размером 24×24 мм. Подсчитывают организмы в 10 полях зрения, перемещая препарат по диагонали, при увеличении микроскопа ×100, при необходимости – ×400. Просматривают не менее трех препаратов. Количество организмов N , экз./см³, определяют по формуле

$$N = \frac{S \cdot d}{\pi \cdot r^2 \cdot V},$$

где S – площадь покровного стекла, мм²; d – среднее количество организмов в одном поле зрения, экз.; $\pi \cdot r^2$ – площадь поля зрения, мм² (радиус r поля зрения определяют по линейке объект-микрометра); V – объем капли, см³.

Наиболее точные результаты получают при подсчете организмов во всех полях зрения. В этом случае удобнее использовать меньший объем суспензии (например, 0,025 см³).

При подсчете крупных организмов (черви, водные клещи, личинки насекомых, тихоходки) объем жидкости увеличивают до 5–10 см³. Подсчет ведут в чашке Петри диаметром около 9 см с ровным дном, толщина слоя воды – 1,5 см. Учитывают все организмы в данном объеме, а затем делают пересчет на 1 см³.

Подсчет организмов активного ила многоступенчатым методом «откалиброванной капли» О. Г. Никитиной. Подсчет организмов осуществляется в три этапа.

I этап. На предметное стекло микропипеткой наносят откалиброванную каплю тщательно перемешанной иловой смеси объемом 0,01 см³. Препарат накрывают покровным стеклом размером 9×9 мм, полученным путем разрезания стандартного покровного стекла размером 18×18 мм на четыре равные части. Препарат укрепляют в препаратодителе и просматривают все поля зрения при увеличении ×100, перемещая его зигзагообразно, начиная от левого верхнего угла покровного стекла слева направо до конца, затем на одно поле зрения вниз и справа налево. Необходимо внимательно следить за тем, чтобы ни одно поле зрения не было пропущено.

II этап. На предметное стекло микропипеткой наносят откалиброванную каплю тщательно перемешанной иловой смеси объемом 0,1 см³. Препарат накрывают покровным стеклом размером 24×24 мм. Просматривают все поля зрения при увеличении ×100. Подсчитывают только те организмы, которые не встречались на первом этапе.

III этап. Со дна сосуда пипеткой отбирают произвольное количество осевшего ила и помещают между двумя предметными стеклами. Учитывают организмы, встречающиеся единично. Просматривают все поля зрения при увеличении ×100.

Для оперативного контроля можно ограничиться двумя первыми этапами.

По полученным данным можно рассчитать специфическую плотность организмов определенного вида P , тыс. экз./г сухого вещества активного ила, по формуле

$$P = \frac{N}{d \cdot V},$$

где N – число организмов определенного вида, экз.; d – доза ила по массе, г/дм³; V – объем капли, см³.

3.7.6. Оценка физиологического состояния организмов АИ

При анализе физиологического состояния гидробионтов учитывают следующие показатели.

1. *Преобладающие группы* и виды организмов биоценоза. Надежными индикаторами состояния активного ила могут быть только организмы, встречающиеся в нем в значительных количествах.

2. *Степень упитанности* (хорошая, удовлетворительная, слабая). Важнейшим критерием упитанности служит интенсивность фагоцитоза, оцениваемая по количеству пищеварительных вакуолей. Другим критерием является степень прозрачности цитоплазмы.

3. *Состояние сократительных (пульсирующих) вакуолей*, выполняющих функцию осморегуляции. Обращают внимание на степень наполнения вакуолей и скорость их пульсации. При неблагоприятных условиях ритм пульсации замедляется и осморегуляция нарушается. Размеры вакуолей характеризуют уровень кислорода в среде. Однако при длительном рассмотрении пробы под покровным стеклом наступает кислородное голодание, вследствие чего пульсирующие вакуоли останавливают пульсацию, расширяются и деформируют тела организмов. Поэтому, наблюдая за живыми инфузориями, нужно достаточно часто заменять препарат свежей каплей иловой смеси.

4. *Форма тела*. Этот признак особенно изменчив у прикрепленных кругоресничных инфузорий. Отклонения от нормы могут быть вызваны различными факторами. При хорошей упитанности форма тела расширенная, почти округлая или бочонковидная, при слабой – происходит вытягивание организмов и расширение передноротовой области. При недостатке кислорода зооиды раздуваются вплоть до их разрыва. Токсические вещества вызывают возникновение различных уродств (вмятины, складки, асимметрия и т. д.).

5. *Состояние ресничного диска* у прикрепленных кругоресничных инфузорий (открыт, закрыт). Обычно он открыт и закрывается лишь при отклонении условий от нормы (избыточном количестве растворенных органических соединений, наличии токсикантов).

6. *Интенсивность работы ресничного аппарата*, обеспечивающего питание и движение инфузорий (интенсивная, слабая, полная неподвижность). Движение ресничек зависит от многих факторов, в первую очередь от температуры и химического состава среды.

7. *Размеры организмов* (нормальные, укрупненные, мелкие). В основном этот показатель связан с условиями питания. Однако токсические вещества, попадающие на очистные сооружения с промышленными стоками, также вызывают измельчение организмов.

8. *Характер размножения*, особенно наглядно проявляющийся на инфузориях. В основном им свойственно бесполое размножение, происходящее путем деления организма на две части. Однако время от времени в жизненный цикл включается половой процесс (конъюгация). Длина периода бесполого размножения у инфузорий варьирует в зависимости от жизненных условий. При обильном и разнообразном питании конъюгация задерживается, голодание и действие некоторых солей ускоряют ее наступление. Таким образом, наличие большого количества особей, размножающихся половым путем, указывает на сдвиг экологических условий в неблагоприятную сторону.

Для прикрепленных форм инфузорий отмечают также темп и количество образующихся подвижных особей, служащих для расселения («бродяжек»).

9. *Наличие цист*. Инцистирование – важное биологическое приспособление большинства простейших, обеспечивающее их сохранность в период наступления неблагоприятных для их существования естественных условий (постепенное снижение температуры, подсушивание, ухудшение питания). В процессе образования цист сбрасываются или втягиваются органеллы движения, животные округляются и образуют на своей поверхности плотную защитную оболочку. При возвращении благоприятных условий простейшие покидают цисты и вновь становятся активными.

10. *Наличие погибших животных*. Гибель может быть вызвана или очень быстрым и резким изменением жизненно важных факторов, при котором животные не успевают инцистироваться, или воздействием чуждых им реагентов (токсиканты и т. д.). Обычно картина массовой гибели гидробионтов наблюдается при мощных залповых сбросах отходов промышленных предприятий.

К анализу физиологического состояния организмов следует подходить творчески, не ограничиваясь указанными признаками. Так, например, могут появляться сезонные и покоящиеся формы организмов, может меняться способ их питания и т. д.

3.7.7. Определение размеров организмов

Материалы и оборудование: микроскоп «Биологический»; микроскоп, оснащенный фотоприставкой; предметные и покровные стекла; автоматические дозаторы достоинством 0,02–0,20 см³; окуляр-микрометр; объект-микрометр; фотоаппарат.

В ряде случаев для уточнения систематического положения или функциональных особенностей организмов активного ила необходимо определение их размеров. Измерение организмов производят с помощью окуляр-микрометра и объект-микрометра. Если организмы подвижны, используют один из методов фиксации.

Более удобным и быстрым является определение размеров организмов методом фотографирования. При этом в большинстве случаев не возникает необходимости фиксировать подвижные организмы. При отсутствии микроскопа, оснащенного фотоприставкой, можно фотографировать с помощью обычного фотоаппарата через окуляр микроскопа. Таким же образом делают фотографии шкалы объекта-микрометра. При этом важно помнить, что фотографии как шкалы, так и измеряемого объекта, следует делать при одинаковом увеличении микроскопа и фотоаппарата. Далее определяют размеры организмов, используя любую компьютерную программу, открывающую графические изображения.

3.7.8. Классификация организмов активного ила по индикаторным группам

Проводят распределение организмов, обнаруженных в исследованной пробе ила, на характерные группы биоиндикаторов (раковинные амёбы, голые амёбы, крупные жгутиконосцы, мелкие жгутиконосцы, брюхоресничные инфузории, кругоресничные инфузории, свободноплавающие инфузории, сосущие инфузории, коловратки, первичнополостные черви (нематоды), брюхоресничные черви, вторичнополостные черви (олигохеты), тихоходки, водные клещи и т. д.). Основными критериями распределения служат пищевые потребности организмов, а также их способность существовать в определенном диапазоне значений экологических факторов (температуры, pH, концентрации растворенного кислорода, токсичных соединений и др.). По результатам анализа составляют таблицу (табл. 3.5).

Таблица 3.5

Результаты гидробиологического анализа

Индикаторная группа, название организма	Количество организмов, экз./см ³ (экз./г)	
	Название точки отбора проб № 1	Название точки отбора проб № 2

Уделяют внимание более многочисленным видам, отмечают массовое развитие, подавление или исчезновение того или иного вида-индикатора.

3.7.9. Определение типа биоценоза и его характерных особенностей

3.7.9.1. Оценка состояния биоценоза по видовой структуре. Рассчитывают индексы видового разнообразия – Шеннона, *Cuba*. Для удобства выполнения вычислений пользуются табл. 3.6.

Таблица 3.6

**Таблица для расчета индекса Шеннона
и модифицированного индекса *Cuba***

Название <i>i</i> -того вида	Число особей <i>i</i> -того вида	Доля <i>i</i> -того вида в сообществе	Данные промежуточных вычислений		
	x_i	$p_i = x_i / x$	$1 / n - x_i / x$	$\lg p_i$	$p_i \cdot \lg p_i$
Сумма					

По полученным значениям оценивают видовое богатство биоценоза и равномерность распределения особей по видам. Делают выводы об эффективности функционирования биоценоза.

3.7.9.2. Оценка качества очищенной воды по индикаторным организмам. Определяют индекс сапробности по методу Пантле и Букка, делают вывод, какой зоне сапробности соответствует изучаемый биоценоз.

Рассчитывают средневзвешенные сапробные валентности методом Зелинки и Марвана. Данные, соответствующие каждому виду (см. с. 257–263 «Фауна аэротенков: атлас» (А. А. Айсаев [и др.], 1984)), вносят в табл. 3.7 в ячейки, выделенные диагональной штриховкой. Результаты вычислений вносят в ячейки, отмеченные сплошной заливкой.

Биоценозу присваивают степень сапробности, соответствующую зоне с максимальной средневзвешенной сапробной валентностью, выявляют наиболее вероятные отклонения.

Таблица 3.7

Таблица для расчета индекса сапробности по методу Пантле и Букка и средневзвешенных сапробных валентностей по методу Зелинки и Марвана

Название индикаторных видов	Сапробные валентности по зонам a_{ik}							Индикаторное значение вида J_i	Степень сапробности s_i	Количество особей h_i
	χ	σ	β	α	ρ	i	m			
$\sum_{i=1}^n a_{ik} \cdot h_i \cdot J_i$										
$\sum_{i=1}^n h_i \cdot J_i$										
$\sum_{i=1}^n s_i \cdot h_i$										
Средневзвешенные сапробные валентности A_k										

По результатам выполненных исследований и расчетов делают гидробиологическое заключение о состоянии активного ила, отмечают его особенности. Дают итоговую оценку биоценоза, относят его к одному из определенных типов, характеризуют установленный тип. Делают вывод об эффективности функционирования очистных сооружений.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ

4.1. Сравнительная оценка направлений переработки послеспиртовой барды

4.1.1. Состав послеспиртовой барды

В нашей стране основным сырьем для производства высококачественного этанола является зерно злаков (пшеница, рожь, тритикале). Производство этанола из углеводсодержащего сырья сопровождается образованием крупнотоннажного отхода – послеспиртовой барды. При масштабах производства этанола в Республике Беларусь 9,2 млн. дал в год общий объем послеспиртовой барды составляет около 1,3 млн м³ при существующей тенденции к увеличению мощностей по производству этанола.

Зерновая послеспиртовая барда содержит 6–8% сухих веществ, в том числе 26–28% сырого протеина (мертвые клетки продуцентов этанола), 6,0–7,5% жира, 7,6–7,8% минеральных веществ, а также углеводы, в том числе клетчатка, на долю которой приходится 12,8–13,4% сухих веществ, органические кислоты, аминокислоты, витамины, спирты. Около 50% сухих веществ находятся в барде в растворенном состоянии, а вторая половина – в виде взвешенных веществ (дробина). Из-за высокого содержания органических веществ послеспиртовую барду невозможно направить на биологические очистные сооружения. Сброс барды в естественные водоемы недопустим, так как приводит к эвтрофикации водоемов и грозит серьезным экологическим ущербом. Необходимость обеспечения надлежащего экологического уровня спиртового производства требует обязательной утилизации послеспиртовой барды.

4.1.2. Использование послеспиртовой барды в Республике Беларусь

Наличие протеина и биологически активных веществ придает барде самостоятельную кормовую ценность, в связи с чем основ-

ным методом утилизации послеспиртовой барды в Республике Беларусь до последнего времени являлась реализация натуральной барды животноводческим фермам и частным хозяйствам в качестве кормовой добавки. Однако натуральная барда не подлежит длительному хранению (развиваются гнилостные процессы), имеет место сезонность спроса на барду, существенны затраты на доставку ее потребителю. Кроме того, перевариваемость сырого протеина барды низкая и составляет около 52%. Этот показатель может быть увеличен до 85–89% обогащением барды белком в результате аэробного культивирования на барде дрожжей рода *Candida*. При этом резко возрастает кормовая ценность барды из-за обогащения ее, кроме белка, витаминами группы В и другими биологически активными веществами. Появляется возможность получения полноценной кормовой белково-витаминной добавки.

Данный метод переработки барды применяется на ряде спиртовых заводов Российской Федерации и освоен в опытно-промышленном масштабе на ОАО «Бобруйский завод биотехнологий». Промышленная реализация технологии на серийном отечественном оборудовании показала ее недостатки: большие затраты энергии на аэрацию барды в дрожжерастильных аппаратах и на последующее обезвоживание дрожжевой биомассы при невысоком выходе продукта. Практически реализация продукта позволяет только покрыть затраты на его производство.

4.1.3. Использование послеспиртовой барды в мировой практике

Технологии переработки барды, применяемые в мировой практике, можно условно разделить на три принципиально различающихся варианта технологических схем:

- 1) получение сухой барды с использованием процессов центрифугирования, упаривания и сушки;
- 2) аэробная микробиологическая переработка жидкой фазы барды с получением белоксодержащего кормового продукта;
- 3) анаэробная переработка барды в метантенках с получением биогаза и кормового продукта, содержащего витамин В₁₂.

4.1.3.1. Получение сухой барды с использованием процессов центрифугирования, упаривания и сушки. В странах Евросоюза и США распространены технологии сушки барды с получением белоксодержащей кормовой добавки. Взвешенные вещества

барды отделяются центрифугированием, фугат частично используется в основном производстве, а большая часть его упаривается в выпарной установке до концентрации сухих веществ 30–35%, концентрат смешивается с кеком и высушивается в сушилке барабанного типа. При этом на обезвоживание барды идут значительные энергетические затраты, доля перевариваемого протеина в продукте невысокая. Конденсат выпарной установки имеет высокий уровень загрязненности (1500–3000 мг О/дм³ по ХПК) и требует отдельной очистки, что не заложено в технологии.

В Российской Федерации на ряде спиртовых заводов реализована укороченная схема переработки барды в сухой продукт (перерабатывается только твердая фаза барды – кек).

Применение мембранных установок для концентрирования фугата позволяет резко уменьшить затраты энергии, однако производительность установок невысокая из-за низкой пропускной способности мембран.

4.1.3.2. Аэробная микробиологическая переработка жидкой фазы барды с получением белоксодержащего кормового продукта.

Принципиальное отличие аэробной биотехнологической переработки барды от технологии сухой барды состоит в том, что фугат барды не подвергается упариванию, а используется в качестве питательной среды для аэробного культивирования дрожжей – продуцентов белка. В качестве продуцентов белка применяют дрожжи родов *Candida*, *Trichosporon*. Полученную дрожжевую суспензию концентрируют сепарированием, подвергают плазмолизу и упаривают, дрожжевой концентрат присоединяют к кеку. Технология непригодна для спиртовых заводов небольшой мощности, так как требует больших капиталовложений и значительных эксплуатационных затрат. Низкое содержание ассимилируемого субстрата в барде не позволяет достичь высокой продуктивности процесса культивирования продуцентов белка. В среднем продуктивность культур по сухой биомассе колеблется в пределах 1,9–3,0 кг/(м³·ч).

Предложена технология переработки барды в смеси с крахмалсодержащими продуктами – мукой (в количестве 3%) или ферментализатом зернового сырья (10–20%), что позволяет увеличить выход кормового продукта и содержание белка в нем. В качестве продуцентов белка используется консорциум микроорганизмов, состоящий из дрожжей *Saccharomycopsis fibuligera* ВСБ-12

и бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВСБ 655. Для гидролиза полисахаридных компонентов барды необходима предварительная обработка ее ферментными препаратами при температуре 50–60°C в течение 1 ч. Получаемый продукт содержит более 55% сырого протеина, а продуктивность консорциума по сухой биомассе достигает 5,7–6,2 кг/(м³·ч).

4.1.3.3. Анаэробная переработка барды в метантенках с получением биогаза и кормового продукта, содержащего витамин В₁₂. Себестоимость продуктов переработки барды по рассмотренным выше технологиям находится в жесткой зависимости от цен на энергоносители. В этом отношении явные преимущества имеют технологии анаэробной переработки барды, продуктом которых является биогаз, содержащий 70–80% метана. Энергетический потенциал биогаза составляет 20–27 МДж/н. м³. В мировой практике биогаз используется в качестве топлива для получения пара, горячей воды, горячего воздуха или топочных газов; для выработки электроэнергии (из 1 н. м³ биогаза получают 2–3 кВт·ч электроэнергии); в качестве топлива для автомобильных двигателей; для подпитки сетей природного газа.

Выход биогаза из 1 т барды в среднем составляет 40–100 н. м³, а содержание метана в биогазе равно 65–70%. Для каждого типа барды технологические регламенты необходимо разрабатывать на основании экспериментального определения оптимальных условий анаэробного разложения органических веществ.

Российскими исследователями предложена комплексная малоотходная технология утилизации послеспиртовой зерновой барды, включающая следующие стадии: сбор исходной барды и предварительное кислое сбраживание ее в течение 12–16 ч с одновременным отстаиванием плотной части барды; фильтрация плотной части барды на сетчатых барабанных фильтрах с пористостью сетки 1,5 мм с отделением дробины от жидкой фазы барды; охлаждение жидкой фазы барды до 40–60°C и подщелачивание ее до рН 6 для денатурации белков с выпадением их в осадок; отделение белка на фильтрах-прессах и сушка белкового концентрата и дробины с получением кормового продукта на вакуумных низкотемпературных инфракрасных сушилках; ферментативная обработка фильтрата барды и его сбраживание в анаэробных биореакторах на протяжении 18–36 ч; осветление сброженного фильтрата в отстойниках с повторным использованием отстоявшегося ила в биореакторах;

возврат 50% осветленных на отстойниках растворов с концентрацией остаточных органических веществ по ХПК 1500–2000 мг О/дм³ в основное технологическое производство спирта; доочистка второй части 50% осветленных на отстойниках растворов до уровня загрязнений по ХПК 30–50 мг О/дм³; использование 30% воды после доочистки для технических нужд завода (подпитка системы охлаждения оборудования, промывка технологического оборудования и т. п.); сброс в городскую канализацию 20% очищенной воды.

Украинская компания предлагает упрощенную технологию анаэробной переработки барды: жидкий сброженный остаток барды после получения биогаза применяется в качестве удобрения, которое содержит азот, фосфор, калий, без патогенных микроорганизмов и специфических запахов.

Анаэробное сбраживание жидкой части барды в термофильных условиях (50–55°C) может быть использовано для получения биогаза и кормового препарата витамина В₁₂ (цианкоболамина). В Российской Федерации такая технология хорошо отработана в промышленных масштабах на ацетонобутиловой барде и в принципе применима для переработки послеспиртовой барды. Витамин В₁₂ играет важную роль в обмене веществ у сельскохозяйственных животных и птиц, способствует их росту, повышает степень усвоения растительного белка. Добавка витамина особенно важна при несбалансированности кормов по аминокислотному составу.

При анаэробном сбраживании барда обогащается витамином В₁₂ за счет продуцирования его метановыми бактериями. Биосинтез витамина интенсифицируется при обогащении барды солями кобальта, метанолом или этанолом, 5,6-диметилбензилимидазолом (5,6-ДМБ).

В частности, при добавлении к барде метанола (1%) и 5,6-ДМБ (5 мг/дм³) содержание витамина в сброженной барде возрастает в 4,5 раза.

Разработана российская технология, по которой барда подвергается микробиологической обработке с помощью специально селекционированного консорциума анаэробных микроорганизмов, которые накапливают биомассу и обогащают продукт веществами (органическими кислотами, ферментами), обладающими защитно-профилактическими свойствами (пробиотическим действием). Консорциум микроорганизмов состоит из двух штаммов бактерий: молочнокислых *Lactobacillus acidophilus* и пропионовокислых

Propionibacterium freudenruchii, которые культивируют вместе. Эти микроорганизмы являются анаэробами, при их выращивании не требуется аэрация питательной среды, что делает процесс высокоэкономичным. Микроорганизмы непатогенны, нетоксичны, разрешены для использования в производстве пищевых продуктов и ветпрепаратов. Совместное выращивание бактерий проводят при температуре 37–50°C и рН 5,9–6,0 при периодическом перемешивании. Продолжительность ферментационного процесса составляет 24 ч (получают продукт, содержащий живые клетки бактерий в активной фазе роста) или 50 ч (получают продукт с повышенным содержанием белка).

Товарный продукт получают центрифугированием или фильтрованием сброженной массы и используют в сыром виде (влажность 50–60%) либо подсушивают до влажности 12%. Предполагается возврат фугата в спиртовое производство. Массовая доля протеина в продукте составляет 35,5–45,6% от сухого вещества. Продукт может храниться до 3 мес. Разработанная технология реализована в промышленном масштабе на одном из спиртзаводов Рязанской области.

Сотрудниками кафедры биотехнологии БГТУ разработана энергосберегающая схема переработки барды в биогаз и кормовой продукт, позволяющая получить из зерновой послеспиртовой барды пригодный для реализации сухой кормовой продукт и использовать энергию образующегося биогаза для обезвоживания и сушки продукта.

Предложенная технология комплексной переработки послеспиртовой барды включает следующие технологические стадии:

- преацидификация барды в присутствии гидролитических ферментов, расщепляющих полисахаридные компоненты, с одновременным культивированием факультативно-анаэробного термотолерантного штамма – продуцента белка;
- разделение фаз барды центрифугированием с получением кека и фугата;
- сушка кека в роторно-дисковой сушилке с получением кормового белоксодержащего продукта;
- анаэробное сбраживание фугата барды в UASB-реакторе с получением биогаза;
- доочистка осветленного сброженного фугата ультрафильтрацией;
- адсорбционная очистка биогаза от сероводорода.

Высокое содержание полисахаридов в сухом веществе барды и низкая скорость их расщепления анаэробными бактериями обуславливают целесообразность предварительной ферментативной обработки барды с целью гидролиза полисахаридных компонентов до мономеров (моносахариды, уроновые кислоты), которые легко ассимилируются микроорганизмами с накоплением белоксодержащей микробной биомассы. Максимальное количество редуцирующих веществ (РВ), которое может быть получено при полном гидролизе полисахаридов послеспиртовой барды, составляет 3%. При внесении ферментного препарата целлюлолитического действия в виде 1%-ного раствора в послеспиртовую барду в количестве 0,5–1,0 см³ на 100 см³ барды (рН 4,5) с последующей выдержкой в течение 24 ч при температурах 42 и 50°С концентрация редуцирующих веществ в барде возрастает с 0,25 до 1,5%, что составляет 50% от потенциального количества редуцирующих веществ, образующихся из полисахаридов послеспиртовой барды. Содержание клетчатки в сухом веществе барды снижается под воздействием фермента на 40%, дальнейший процесс расщепления клетчатки затормаживается ингибированием ферментов продуктами ферментализации. Совмещение процессов ферментативной обработки и преацидификации барды позволяет нивелировать ингибирование ферментов за счет потребления редуцирующих веществ кислотогенными микроорганизмами и повысить степень расщепления клетчатки.

Ультразвуковая обработка послеспиртовой барды приводит к увеличению степени дисперсности частиц взвешенных веществ и повышению их биодоступности для ферментных систем микроорганизмов, однако переход взвешенных веществ в растворенное состояние не наблюдался. Например, при дозе введенной энергии 80 000 Дж/кг сухих веществ (СВ) послеспиртовой барды выход биогаза увеличивается в 3,25 раза и составляет 176,43 м³/т СВ.

Послеспиртовая барда выдерживается в сборнике-отстойнике для разделения фаз влажной дробины и осветленной барды, а также проведения преацидификации (осуществления стадий гидролиза и кислотогенной стадии). Для интенсификации процесса гидролиза полимерных компонентов барды применяется обработка ее раствором ферментного препарата целлюлолитического действия либо ультразвуком. С целью дополнительного накопления белка

одноклеточных на стадии преацидификации предложено использовать культивирование термотолерантного факультативно-анаэробного штамма дрожжей *Lachancea fermentati*. При культивировании на ферментированной послеспиртовой барде в условиях отсутствия аэрации при 42°C (ограниченное развитие посторонних микроорганизмов) и рН 4,2–4,5 штамм имеет высокую удельную скорость роста ($0,12 \text{ ч}^{-1}$) и обладает конкурентоспособностью в присутствии кислотогенных микроорганизмов, развивающихся в условиях преацидификации барды. За 24 ч в этих условиях культура накапливает биомассу в количестве $0,5 \text{ г/дм}^3$ по абсолютно сухому веществу.

Выделенная чистая культура штамма дрожжей *Lachancea fermentati* имеет клетки размером $(2,5\text{--}5,0) \times (3,0\text{--}7,5)$ мкм, размножается многосторонним почкованием, образует псевдомицелий с бластоспорами и аскоспоры, сахара не сбраживает, способна к росту при величине рН среды 3–9, оптимальная температура роста 40–42°C, индивидуальные колонии на сусло-агаре белые, матовые, диаметром около 2 мм. Дрожжи рода *Lachancea* не обладают патогенностью.

Разработанная технология микробиологической переработки послеспиртовой барды позволяет получить из 1 т отхода 50–55 кг сухого белоксодержащего кормового продукта и 3–14 м³ биогаза.

В состав сухого кормового продукта входит биомасса метаногенных бактерий, содержащая витамин В₁₂, и белок биомассы дрожжей, выращенных на стадии преацидификации.

Таким образом, полная переработка или утилизация послеспиртовой барды является обязательным условием функционирования современного спиртового производства; использование натуральной барды в качестве кормовой добавки не является эффективным методом ее утилизации, и, несмотря на сформировавшийся в мире рынок сухой барды, большую перспективу и значимость имеют продукты микробиологической переработки барды; принимая во внимание дефицит и возрастающую стоимость энергоносителей, следует признать целесообразным применение малоэнергос затратных анаэробных технологий микробиологической переработки барды, особенно технологий, позволяющих получить кормовой продукт с низкой себестоимостью, обеспечивающей окупаемость капиталовложений.

4.2. Лабораторная работа

Обогащение послеспиртовой барды микробным белком

Вопросы для самоподготовки. 1. Характеристика состава послеспиртовой барды. 2. Технология получения сухой барды. 3. Технология аэробной микробиологической переработки барды с получением белоксодержащего кормового продукта. 4. Характеристика продуцентов для обогащения микробным белком.

Цель работы – освоение методов подготовки послеспиртовой барды к выращиванию продуцентов белка; моделирование производственного процесса наращивания биомассы; овладение методами контроля биомассы.

Порядок выполнения работы. Подготовить посевной материал. Определить содержание взвешенных и растворенных веществ в исходной послеспиртовой барде. Установить содержание белка в послеспиртовой барде. Подготовить послеспиртовую барду к выращиванию дрожжей. Определить содержание взвешенных и растворенных веществ в подготовленной послеспиртовой барде. Провести наращивание биомассы дрожжей на послеспиртовой барде. Определить содержание белка, взвешенных и растворенных веществ в обогащенной белком одноклеточных микроорганизмов послеспиртовой барде.

Реактивы, материалы, оборудование: послеспиртовая барда; сусло-агар; дигидрофосфат аммония; хлорид калия; ферментный препарат «Целлолюкс А», обладающий целлюлазной активностью; фильтровальная бумага; бактериологическая петля; реактивы и оборудование для определения содержания белка (см. п. 5.2.7, 5.2.8); качалочные колбы на 250 см³; ультразвуковой генератор УЗДН-2Т; установка для фильтрации под вакуумом; фарфоровые чашки; электрическая плитка; биологический микроскоп.

4.2.1. Подготовка посевного материала

В качестве продуцентов белка на зерновой послеспиртовой барде используют дрожжи родов *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Lachancea*.

Коллекционную культуру дрожжей (студент получает культуру по указанию преподавателя) с соблюдением условий асептики

засевают на скошенную агаризованную среду (сусло-агар) в пробирке. Пробирки помещают в термостат и инкубируют при температуре 30–32°C в течение 48 ч.

4.2.2. Подготовка послеспиртовой барды к выращиванию дрожжей

Отмеряют 200 см³ послеспиртовой барды (при необходимости барду разбавляют водой), переливают в стакан на 500 см³ и выдерживают на водяной бане при 95°C на протяжении 30 мин, затем стерильной водой доводят объем до первоначального и охлаждают до 50–60°C. Для количественного определения растворенных и взвешенных веществ исходной барды отбирают 50 см³ послеспиртовой барды.

Взвешенные вещества отделяют фильтрованием и устанавливают их количество взвешиванием после высушивания до полного удаления влаги при 105°C. Концентрацию растворенных веществ находят выпариванием полученного фильтрата на водяной бане с последующим высушиванием остатка при 105°C. Сухие остатки в фарфоровой чашке и на фильтре после взвешивания затем используются для определения исходного содержания белка в послеспиртовой барде (см. п. 5.2.7 или 5.2.8).

Оставшиеся 150 см³ послеспиртовой барды обогащают биогенными элементами, для чего в нее вносят фосфат аммония и хлорид калия из расчета 1,5 г/дм³ NH₄H₂PO₄ и 0,3 г/дм³ KCl.

50 см³ послеспиртовой барды, обогащенной биогенными элементами, отбирают в качалочную колбу для выращивания дрожжей на необработанной барде, а оставшиеся 100 см³ подготавливают к ферментации путем обработки ферментным препаратом гидролитического действия либо ультразвуком для более полного использования компонентов послеспиртовой барды клетками дрожжей.

В качестве источника ферментов используют ферментный препарат «Целлюлюкс А», обладающий целлюлазной, ксиланазной и глюкоканазной активностью, в количестве 0,25–1,0 см³ 1%-ного раствора ферментного препарата на 100 см³ послеспиртовой барды. Обработку проводят при 50°C в течение суток. Ультразвуком обрабатывают с использованием ультразвукового дезинтегратора (см. п. 4.2.3).

Подготовленную послеспиртовую барду разливают в две качалочные колбы по 50 см³, эти колбы и колбу с необработанной бардой

закрывают крышечками из алюминиевой фольги и стерилизуют в течение 40 мин при давлении 0,12 МПа. Содержимое одной колбы с подготовленной бардой используется для установления количества растворенных и взвешенных веществ после обработки ферментным препаратом (либо ультразвуком). По разнице между значениями, полученными для необработанной и подготовленной послеспиртовой барды, оценивают эффективность разрушения клетчатки.

Содержимое двух оставшихся колб (с необработанной и подготовленной бардой) используется для выращивания продуцента белка (см. п. 4.2.4).

По окончании культивирования содержимое двух качалочных колб также анализируется на количественное содержание растворенных и взвешенных веществ культуральной жидкости. По разнице между значениями растворенных и взвешенных веществ, полученными для обработанной раствором фермента послеспиртовой барды и культуральной жидкости, определяют степень преобразования органических веществ барды в белок одноклеточных.

Сухие остатки в фарфоровых чашках и на фильтрах после взвешивания используются для определения содержания белка в культуральной жидкости, полученной из предварительной обработанной ферментным препаратом либо ультразвуком послеспиртовой барды и из барды без предварительной обработки. В обоих случаях определяют степень преобразования органических веществ барды в белок одноклеточных.

4.2.3. Ультразвуковая обработка послеспиртовой барды

Ультразвуковую обработку осуществляют с применением ультразвукового генератора УЗДН-2Т мощностью 400 Вт при частоте колебаний 22 кГц. Продолжительность ультразвуковой обработки проб барды определяется количеством энергии, вводимой в пробу в расчете на единицу массы сухого вещества (СВ). Рекомендуемая величина вводимой энергии составляет 20 000–80 000 кДж/кг СВ послеспиртовой барды.

Количество вводимой энергии при ультразвуковой обработке E , кДж/кг СВ, рассчитывают по следующей формуле:

$$E = \frac{N \cdot T \cdot 1000 \cdot 100}{V \cdot \rho \cdot c},$$

где N – мощность ультразвукового генератора, Вт; T – продолжительность обработки, с; V – объем обрабатываемой пробы, дм^3 ; ρ – плотность суспензии, $\text{кг}/\text{м}^3$; c – концентрация сухих веществ в суспензии, %.

Образцы исходной барды и барды после ультразвуковой обработки микроскопируют при увеличении в 400 раз, отмечают степень разрушения дробины.

4.2.4. Выращивание дрожжей на подготовленной послеспиртовой барде

Засев качалочных колб проводят в условиях асептики. В пробирку с культурой вливают 6–8 см^3 стерильной подготовленной послеспиртовой барды из колбы, бактериологической петлей снимают культуру дрожжей с поверхности агаризованной среды и полученную суспензию возвращают в качалочную колбу. Все операции осуществляют около пламени горелки. Засеянные колбы помещают в шейкер-инкубатор и выращивают дрожжи при температуре 30–32°C либо 42°C в течение 2 сут

4.2.5. Расчет эффективности использования компонентов послеспиртовой барды продуцентом белка

Эффективность перевода взвешенных веществ послеспиртовой барды в растворенное состояние в результате обработки ферментным препаратом или ультразвуком $\mathcal{E}_{\text{обр}}$, %, оценивают по формуле

$$\mathcal{E}_{\text{обр}} = \frac{(BB_1 - BB_2) \cdot 100}{BB_1},$$

где BB_1 – содержание взвешенных веществ в исходной послеспиртовой барде, $\text{г}/\text{дм}^3$; BB_2 – содержание взвешенных веществ в подготовленной к культивированию продуцента белка послеспиртовой барде, $\text{г}/\text{дм}^3$.

Прирост дрожжевой массы в результате использования растворенных веществ послеспиртовой барды $\mathcal{E}_{\text{обогащ}}$, %, устанавливают по формуле

$$\mathcal{E}_{\text{обогащ}} = \frac{(BB_3 - BB_2) \cdot 100}{PB_2 - PB_3},$$

где $BВ_3$ – содержание взвешенных веществ в обогащенной белком одноклеточных послеспиртовой барде, г/дм³; $PВ_2$ – содержание растворенных веществ в подготовленной к культивированию продуцента белка послеспиртовой барде, г/дм³; $PВ_3$ – содержание растворенных веществ в обогащенной белком одноклеточных послеспиртовой барде, г/дм³.

Увеличение содержания белка в послеспиртовой барде после ее обогащения белком одноклеточных микроорганизмов \mathcal{E}_6 , %, рассчитывают по формуле

$$\mathcal{E}_6 = \frac{(B_2 - B_1) \cdot 100}{B_1},$$

где B_2 – содержание белка в обогащенной белком одноклеточных послеспиртовой барде, % от сухой массы; B_1 – содержание белка в исходной послеспиртовой барде, г/дм³.

Прирост дрожжевой массы и увеличение содержания белка необходимо рассчитать для предварительно обработанной и необработанной барды. Полученные данные свести в таблицу.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

5.1. Получение кормового белка на растительных отходах

Важным условием полноценного кормления животных является обеспеченность кормов белком. Для удовлетворения физиологической потребности животных в белке на одну кормовую единицу содержание перевариваемого протеина должно быть не менее 105–115 г. *Кормовая единица* – это количество корма, по питательности соответствующее 1 кг зерна овса среднего качества, из которого в организме крупного рогатого скота при откорме предполагается получение 150 г жира (1414 ккал, или 5,95 МДж).

Фактическая обеспеченность кормов белком гораздо ниже требуемой, и дефицит перевариваемого протеина составляет 15–20 г на одну кормовую единицу. Это снижает продуктивность животных, ведет к перерасходу кормов на 20%. Из-за дефицита белка недобор продукции животноводства в целом по республике ежегодно составляет 15–35%, а ее себестоимость возрастает в 1,5 раза.

Потребность в кормовом белке для животноводства и птицеводства в нашей стране оценивается в 120 тыс. т в год. Только птицеводческим предприятиям «Белптицепром» в год необходимо 90–100 тыс. т соевого и подсолнечникового шрота, 30–35 тыс. т рыбной и мясокостной муки. Потребность в кормовых дрожжах при введении их в рацион птицы, согласно нормам, составляет 26–30 тыс. т.

Частично решить проблему недостатка белка можно путем использования продуктов микробиологического синтеза (бактериальной, дрожжевой и грибной биомассы, полученной на различных субстратах). По содержанию сырого протеина и незаменимых аминокислот белковые корма, полученные таким способом, превосходят растительные высокопротеиновые кормовые средства и по своему составу приближаются к высокоценным компонентам животного происхождения – рыбной и мясокостной муке.

Важным фактором является то, что питательным субстратом для выращивания микроорганизмов – продуцентов белка может служить доступное, дешевое сырье – отходы сельскохозяйственного производства, пищевой, целлюлозно-бумажной и деревообрабатывающей промышленности, а также бытовые отходы (газеты, бумага) и т. д.

5.1.1. Сырье для получения кормового белка

Отходы сельского хозяйства (солома злаков, початки, стебли и листья кукурузы, стебли и корзинки подсолнечника, ботва различных корнеплодов и др.) обладают низкой кормовой ценностью из-за наличия трудногидролизуемых полисахаридов и невысокого содержания белка. Исключения составляют семена бобовых культур, в которых содержание белка достигает 50%.

Отходы пищевой промышленности составляют 60–80% от перерабатываемого сырья, а в некоторых случаях – до 95%. Они богаче по количеству питательных веществ, безвредны, легче поддаются ферментативной и микробной биоконверсии, различным видам предварительной обработки.

Зерноперерабатывающая промышленность дает ценные для биоконверсии отходы, образующиеся при помоле зерна (отруби и др.). При выработке круп из гречихи, овса, проса, ячменя суммарное количество отходов составляет в среднем 35% от перерабатываемого зерна, при помоле пшеницы – не менее 12%. Пшеничные отруби содержат около 18% белка, ржаные – 13,5%. Кормовую ценность зерновых отходов в результате биоконверсии можно повысить в 2–2,5 раза.

При получении спирта из крахмалсодержащего сырья общее количество отходов составляет 30–35% к массе сырья, в основном это зернокартофельная послеспиртовая барда. В сухом веществе барды содержится около 39% сырого протеина. Основную массу барды скармливают животным в натуральном виде. Однако более рациональным способом утилизации является производство на ее основе кормовых дрожжей.

В производстве пива в отходы переходит около 25% сырья. Для обогащения белком подходят пивная солодовая дробина, зерновые отходы, сплав зерна.

Сахарные заводы дают следующие виды отходов: свекловичный жом, мелассу, рафинадную патоку, фильтрационный осадок, свекловичный бой. Наибольший интерес представляет жом, со-

ставляющий 83% к массе переработанной свеклы. Жом включают в состав кормов, применяют в микробиологической промышленности как компонент питательных сред.

Основными отходами крахмалопаточной промышленности являются картофельная мезга и клеточный сок (11–45 и 50% к массе картофеля соответственно). В мезгу переходит до 7% СВ картофеля, из них 40–60% составляет крахмал. Клеточный сок содержит в среднем 6% СВ.

Из отходов масложировой промышленности для биоконверсии может быть использована подсолнечная лузга, образующаяся в количестве до 30% к массе семян подсолнечника.

Для получения кормового белка применяют необработанное растительное сырье (прямая биоконверсия) или сырье, подвергнутое предварительной обработке механическими, химическими, электрохимическими, радиационными методами, а также с помощью ферментных препаратов.

Прямая биоконверсия целесообразна при переработке жидких субстратов с достаточно высоким содержанием легкоусваиваемых соединений углерода и азота. Однако в последнее время во многих странах мира возрос интерес к проблеме получения кормового белка путем культивирования микроорганизмов на твердых питательных средах, чаще всего на целлюлозосодержащих промышленных и городских отходах. Такой процесс является более экономически выгодным по сравнению с производством кормовых дрожжей на растительных гидролизатах, так как исключает дорогостоящий процесс кислотного или ферментативного гидролиза. Прямую биоконверсию твердых субстратов осуществляют при помощи микроорганизмов с мощными ферментными системами, способными воздействовать непосредственно на биополимеры сырья.

Технология биоконверсии растительного сырья с целью получения белка включает следующие стадии: подготовка растительного сырья к биоконверсии, выбор штамма-продуцента, способа и оптимальных параметров культивирования, промышленное культивирование, получение товарного продукта (углеводно-белкового корма или биомассы микроорганизмов).

5.1.2. Подготовка растительного сырья к биоконверсии

Из числа содержащихся в растительных отходах углеводов сравнительно легко гидролизуются ферментами микроорганизмов

крахмал и пектиновые вещества, промежуточное положение занимает гемицеллюлоза, а наиболее трудногидролизуемы целлюлоза и лигнин. Соответственно, субстраты с высоким содержанием целлюлозы и лигнина (древесина, солома, ботва, одревесневшие части растений) при прямой биоконверсии лишь незначительно обогащаются белком. Так, при поверхностном выращивании актиномицетов, микромицетов на древесных отходах после механического размола содержание белка составляет около 14%. В то же время накопление белка актиномицетами на целлобиозе достигает 59%, грибами – 40%.

Для повышения доступности компонентов сырья действию микробных ферментов и степени конверсии в белок трудногидролизуемые виды отходов подвергают предварительной обработке различными способами.

Крахмалсодержащее сырье подвергают термообработке, режим которой должен обеспечить наиболее полный переход крахмала в растворимое состояние и образование минимального количества побочных продуктов. Температура обработки зависит от степени измельчения: для целого зерна требуется нагревание до 140–150°C, для измельченного сырья достаточно 120–126°C. Наиболее перспективны для измельчения зерносырья роторно-пульсационные аппараты.

Целлюлозосодержащее и пентозансодержащее сырье предварительно обрабатывают физическими и химическими методами.

Механическое измельчение представляет собой наиболее простой способ предварительной обработки и позволяет увеличить удельную поверхность материала, что приводит к возрастанию скорости превращения субстратов. При сильном измельчении (например, на вибромельнице) структура сырья меняется на молекулярном уровне – степень полимеризации целлюлозы снижается с 1200 до 900 глюкозных единиц (количество остатков глюкозы в полимере).

Механические методы предварительной обработки часто сочетают с ферментативными и химическими.

Ферментативная обработка. Наиболее перспективны для этого вида обработки материалы с низким содержанием нецеллюлозных компонентов (лигнина): плодоовощные отходы, некондиционное фуражное зерно, лигноцеллюлозные материалы (солома, отходы подсолнечника и др.), отходы целлюлозно-бумажной промышленности, сбора и обработки льна и др.

Ферментные препараты выбирают в соответствии с составом сырья. Так, гидролиз целлюлозосодержащего и пентозансодержащего сырья осуществляют комплексом целлюлолитических, гемицеллюлазных и лигнолитических ферментов (например, «Целловиридин», «Пектофоегидин» и др.). Концентрация сахаров в ферментолизатах измельченной соломы составляет 5–15%. Степень конверсии отходов целлюлозно-бумажного производства (мелкого волокна от бумагоделательных машин) при ферментативном гидролизе достигает 60%, концентрация глюкозы в ферментолизатах – до 7%, целлобиозы – до 4%. Однако процесс ферментативного гидролиза достаточно длителен, его продолжительность – около 5 сут

Для гидролиза плодоовощных отходов, содержащих значительные количества пектиновых веществ и целлюлозы, используют комплекс пектиназ и целлюлаз. Для обработки фуражного зерна, главные компоненты которого – крахмал, белок, глюкан, арабиноксилан, необходим комплекс амилазы, протеазы, глюканазы и ксиланазы. Такой комплекс можно получить, например, сочетанием препаратов «Амилосубтилин», «Протосубтилин» и «Целловиридин» или «Вильзим АК». Разработанные технологии обеспечивают степень конверсии полисахаридов 61–99% в зависимости от состава жидкой фазы, вида зерносырья и используемых ферментных препаратов.

Качество кормовых белковых продуктов, получаемых на ферментолизатах, зависит от применяемых культур микроорганизмов, а также режима предварительной обработки сырья. Содержание сырого протеина колеблется от 27 до 50%, белка – от 21 до 34%. Например, на ферментолизате зерна, полученном путем двухступенчатого гидролиза термостабильной α -амилазой и глюкоамилазой, дрожжи *Candida blankii* обеспечивают выход сырого протеина около 50%. В то же время при выращивании пекарских дрожжей на ферментолизатах соломы содержание сырого протеина в полученном корме значительно ниже и составляет около 18%.

Наивысшие показатели (52% сырого протеина) получены при использовании ассоциации бактериальных культур *Acetobacter methylicum* и *A. methylovorans* с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae (diastaticus)* ВКПМ-1218 на пульпе ферментолизата отрубей с концентрацией сухих веществ 11%.

Хорошие результаты дает также культивирование дрожжей на ферментолизатах пивной дробины, свекловичного жома, льняной костры, подсолнечной лузги.

При использовании нестерильных сред обработку сырья ферментами можно совмещать с процессом выращивания микроорганизмов.

Химическая предварительная обработка растительного сырья применяется для разделения комплексов структурных полимеров растений. При этом происходит преимущественная экстракция какого-либо компонента, а также расщепление полимеров на низкомолекулярные продукты, служащие микроорганизмам источниками питания.

В качестве химических агентов чаще всего используют кислоты и щелочи. Мягкая обработка этими агентами (в течение 1–4 ч при температуре не выше 100°C и атмосферном давлении) применяется для перевода в растворимое состояние гемицеллюлозы, пектиновых веществ, лигнина. Более жесткий режим обработки дает возможность расщепить биополимеры на блоки различной величины, вплоть до мономеров.

Недостаток химической обработки состоит в том, что она дает побочные продукты реакции, обладающие токсическим действием на микроорганизмы. Так, при кислотном гидролизе растительного материала образуются метанол, формальдегид, ацетон, фенолы, фурфурол и его производные, муравьиная кислота. Как кислотный, так и щелочной гидролиз приводит к деградации аминокислот, образованию продуктов их конденсации с углеводами и другими соединениями.

Жесткий кислотный гидролиз целлюлозосодержащего сырья лежит в основе технологии дрожжей, выращиваемых на гидролизатах древесины. Изучение механизма кислотного гидролиза различных групп полисахаридов растительного сырья позволило разработать рациональную технологию раздельного получения пентозных и гексозных смесей моносахаров с минимальными примесями нежелательных продуктов. Такое разделение очень важно, поскольку на гексозном гидролизате можно выращивать экологически безопасные дрожжи рода *Saccharomyces*, в то время как на смеси пентоз и гексоз или на чистых пентозах – только дрожжи рода *Candida*, которые могут вызывать аллергические реакции у людей и животных.

Для повышения пищевой ценности древесины быстрорастущих пород деревьев, подсолнечной лузги и других грубых кормов применяют метод «парового взрыва». Он состоит в том, что влажные древесные опилки подвергают воздействию повышенного давления и температуры 150–230°C. При резком снижении давле-

ния опилки превращаются в рыхлую целлюлозосодержащую массу. Конверсия древесины березы с помощью парового взрыва (4 мин при 230°C) дает выход растворимых веществ до 40%. Последующий ферментативный гидролиз с помощью целлюлолитических ферментов (в течение суток при pH 4,5 и температуре 40°C) позволяет перевести в растворимое состояние 84% содержащихся в древесине сахаров, причем пентозные сахара полностью переходят в мономерные формы, а выход глюкозы составляет 66% от теоретического. Полученные гидролизаты можно использовать для культивирования дрожжей рода *Candida*.

5.1.3. Выбор микроорганизмов – продуцентов белка

Выбор продуцента определяется общим содержанием белка в биомассе, аминокислотным составом и усваиваемостью белка, содержанием нежелательных компонентов (нуклеиновых кислот, некоторых жирных кислот, полисахаридов с аллергенными свойствами).

В качестве продуцентов микробного белка на растительных отходах можно использовать бактерии, дрожжи, низшие и высшие мицелиальные грибы. В основном применяют культуры дрожжей (роды *Candida*, *Endomycopsis* и др.) и несовершенных грибов (роды *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* и др.). Возможно использование базидиомицетов (роды *Schizophyllum*, *Coriolus*, *Panus*, *Pleurotus* и др.).

При культивировании на жидких средах предпочтение отдают дрожжевым культурам как наиболее изученным и не требующим, в отличие от бактерий, асептических условий культивирования. Использование мицелиальных грибов в крупнотоннажном производстве белка ограничивается их низкой удельной скоростью роста (0,12–0,15 ч⁻¹). Основным недостатком процессов прямой биоконверсии крахмала, муки и зерносырья различных видов, картофельной мезги при глубинном и поверхностном культивировании мицелиальных грибов и актиномицетов является их длительность (до 5 сут).

Для прямой биоконверсии растительного субстрата в белковый кормовой продукт можно использовать один штамм микроорганизмов, обладающий комплексом ферментов для гидролиза субстрата и синтеза белка. Например, на отходах, содержащих крахмал, культивируют штаммы дрожжей *Lypomyces kononenkoae*, продуцирующие α-амилазу и глюкоамилазу. Гриб *Polyporus spreatorius* при твердофазной ферментации фуражной муки дает

продукт с содержанием белка 15%. При глубинном культивировании микроскопических грибов на нативной и обработанной паром соломе содержание белка в продукте достигает 14–21%, причем наилучшие результаты получены для *Trichoderma lignorum*.

Известны технологии получения препаратов с содержанием сырого протеина 45–55% на основе отходов переработки картофеля (клеточного сока и мезги) при помощи грибов рода *Penicillium*.

Для прямой биоконверсии зерносырья (отруби, нестандартное зерно) большой интерес представляют дрожжи рода *Saccharomyces*. Например, штамм *S. cerevisiae (diastaticus)* ВКПМ У-1218, обладающий амилолитической активностью, способен при выращивании на водной пульпе в течение 10–20 ч (рН 4,5–5,0, температура 32–34°C) ассимилировать крахмал отрубей наряду с моно- и дисахаридами.

В других случаях перспективно использование ассоциаций из двух и более штаммов, среди которых есть микроорганизмы с высокой активностью гидролитических ферментов и микроорганизмы, активно синтезирующие белок. Например, при биоконверсии соломы применяют гидролизующие ее грибы рода *Penicillium*, а на образовавшихся продуктах гидролиза выращивают дрожжи – продуценты белка. Совместное культивирование культур *Lipomyces kononenkoae* (или *Schwanniomyces alluvius*), обладающих амилолитической активностью, и *Candida scottii* позволяет достичь содержания белка в биомассе при биоконверсии пшеничных отрубей 14%, пшеницы – 31%. Содержание белка в препарате, полученном при культивировании дрожжей *Endomycopsis fibuligera* и бактерий рода *Brevibacterium*, составляет около 12%. Прямая ферментация послеспиртовой барды с добавлением 6% муки ассоциацией дрожжей *Saccharomycopsis fibuligera* и бактерий *Rhodococcus erythropolis* позволяет получить содержание протеина до 48%.

Бактерии, актиномицеты, дрожжи и мицелиальные грибы показывают неплохие результаты по накоплению белка на простых целлюлозосодержащих субстратах, однако при использовании в качестве субстрата древесины эти микроорганизмы существенно уступают высшим дереворазрушающим грибам.

Дереворазрушающие грибы делят на возбудители белой гнили, способные глубоко разрушать лигнин, и бурой гнили, разрушающие целлюлозу и другие полисахариды, что обусловлено действием комплекса, включающего до 20 различных ферментов. Однако процессы разрушения древесины в природных условиях идут

очень медленно – в течение нескольких лет и более. Считают, что главным фактором, ограничивающим скорость роста грибов, является недостаток азота в древесине. Кроме того, для питания грибов необходимы также сера, фосфор, калий, магний, железо, медь, цинк, марганец, молибден, кальций, галлий, бор, скандий, ванадий. Внесение минеральных веществ в субстрат позволяет значительно сократить сроки выращивания. Так, при поверхностном культивировании мицелия базидиальных грибов *Schizophyllum commune*, *Coriolus pubescens*, *C. hirsutus*, *Pleurotus ostreatus*, *Panus tigrinus* на осиновом опиле с минеральными добавками на протяжении 5–21 сут содержание белка в растительно-грибном концентрате достигало 4–7%. При глубинном культивировании мицелия этих грибов в суспензии опила осины в течение 7–15 сут при pH 5,0–5,5 и температуре 26–28°C содержание белка в растительно-грибном концентрате составило 5–7%. Для поверхностного способа выращивания используют и крахмалсодержащее сырье – зерно.

Предварительная обработка сырья частично заменяет действие гидролитических ферментов микроорганизмов, и в этом случае выбор продуцента белка облегчается.

5.1.4. Подготовка посевного материала

При выращивании грибов посевным материалом могут служить поверхностные культуры, а также споровый материал или мицелиальная масса продуцента, полученная глубинным культивированием.

Посевную поверхностную культуру получают выращиванием гриба на твердых средах – отрубях, свекловичном жоме, крупах и других в 3–4 этапа с увеличением объема среды. Культивирование ведут до обильного спорообразования. Посевной материал может храниться при комнатной температуре в течение месяца. Для продления срока хранения посевную культуру подсушивают до влажности 10–12% и хранят при температуре 4–6°C. Расход посевной культуры грибов на единицу массы среды составляет при глубинном культивировании около 0,005%, при твердофазном – 0,01%.

Для получения спорового посевного материала конидии отделяют от основной массы поверхностной культуры потоком воздуха в специальном вибросепараторе.

Посевной материал в виде мицелиальной массы получают культивированием грибов в жидкой среде в инокуляторе.

Посевной материал неспороносящих форм микроорганизмов получают ступенчато. Бактерии или дрожжи из пробирки с чистой культурой пересевают несколько раз в последовательно возрастающие объемы питательной среды. Расход посевного материала, получаемого глубинным культивированием, составляет от 3 до 10% к объему засеваемой среды.

Посевного материала должно быть достаточно для обеспечения быстрого развития микроорганизмов, что особенно важно при выращивании микроорганизмов на нестерильных средах.

5.1.5. Выбор способа культивирования

Определяется физиологическими особенностями микроорганизмов и свойствами сырья.

Питательный субстрат из растительного сырья может быть в твердом виде, в виде суспензии или осветленного раствора.

Процессы культивирования микроорганизмов на твердых и суспензионных субстратах можно осуществить несколькими путями:

1) поверхностным или глубинным культивированием микроорганизмов, хорошо растущих на лигноцеллюлозных материалах (прямая биоконверсия);

2) культивированием микроорганизмов после ферментативной обработки растительных отходов или при совместном использовании ферментов и микроорганизмов;

3) выращиванием микроорганизмов на целлюлозо- и гемицеллюлозосодержащих отходах после их предварительной химической обработки (щелочью, кислотой или солями).

Осветленными субстратами в промышленном производстве кормовых дрожжей являются нейтрализованные осветленные сернокислотные гидролизаты растительного сырья и сульфитные щелока.

При выращивании микроорганизмов с целью получения белка на твердых и суспензионных субстратах получают углеводно-белковые продукты (обогащенные белком корма), на осветленном – биомассу микроорганизмов.

Для получения кормовых белковых продуктов используют поверхностный (в основном твердофазный) и глубинный способы культивирования. Поверхностный способ осуществляется в периодическом режиме, глубинный – в периодическом и непрерывном. Твердофазное культивирование применяют почти исключительно для выращивания мицелиальных грибов. Глубинный способ успеш-

но используется для выращивания как дрожжей, так и мицелиальных грибов.

При твердофазном культивировании микроорганизмы выращивают на увлажненных, хорошо аэрируемых твердых (сыпучих) средах. Основной сред является обогащаемый корм: отруби зерновых культур, крупы, лигноцеллюлозные субстраты, свекловичный жом и др.

При необходимости в среду в небольших количествах добавляют минеральные элементы, допустимые в составе корма (соли аммония, сульфат магния, сульфат или хлорид калия, фосфаты, сульфат или хлорид кальция, микроэлементы). Влажность среды составляет 55–75%.

Питательные среды стерилизуют, засевают культурами микроорганизмов, перемешивают для равномерного распределения посевного материала, а затем раскладывают в кюветы тонким слоем толщиной 3–5 см. Кюветы помещают в растительные камеры с регулируемой температурой и влажностью. В современных условиях поверхностное культивирование грибов осуществляют в механизированных установках в слое сыпучей среды толщиной до 300 мм.

По окончании твердофазного процесса получают культуру в виде плотной, подсохшей массы с содержанием сухих веществ 50–65%. До 30% СВ составляют ферменты, неактивные белки, пептиды, аминокислоты, олиго- и полисахариды, нуклеиновые соединения, минеральные вещества.

Достоинствами твердофазного культивирования являются возможность применения крупнодисперсных субстратов, хорошие физические свойства среды, обеспечивающие высокий уровень тепло- и массообменных процессов в культуре. Микроорганизмы растут в условиях, близких к естественным, при фиксации на субстрате, который при этом быстро и полно используется. Микроскопические грибы при твердофазном культивировании имеют высокую скорость синтеза белка. Мицелий не повреждается механически, как это имеет место в глубинной культуре. Кроме того, низкая влажность готовой культуры облегчает получение товарной формы.

Глубинное культивирование продуцентов белка обладает следующими преимуществами перед поверхностным: позволяет значительно сократить производственные площади, исключает непродуцительный ручной труд, улучшает гигиену труда, позволяет автоматизировать производство. При глубинном культивировании

улучшается степень использования компонентов питательной среды.

Глубинное культивирование проводят в ферментаторах, снабженных перемешивающими устройствами, системами аэрации, термо- и рН-регуляции. Питательные среды стерилизуют непосредственно в ферментаторах или установках непрерывной стерилизации. В технологии биоконверсии растительного сырья часто применяют нестерильные среды. Концентрация питательных компонентов в средах не превышает 25% (обычно 5–10%). В состав питательных сред входят минеральные соли, стимуляторы роста, а также источники органических соединений углерода и азота в водорастворимой или мелкодисперсной форме.

Накопление продуцентами белка связано с накоплением биомассы и при непрерывном культивировании достигает максимума в конце экспоненциальной – начале стационарной фазы роста. Скорость протока среды поддерживают равной удельной скорости роста микроорганизмов, что обеспечивает требуемую концентрацию биомассы в аппарате. Поступление свежей питательной среды снимает ингибирование роста микроорганизмов продуктами обмена.

Как правило, при непрерывном культивировании удельная скорость роста и биосинтеза целевых продуктов выше, чем при периодическом. Снижается расход компонентов питательной среды, поскольку применяются более бедные среды, повышается коэффициент использования оборудования, уменьшается расход энергии и количество сточных вод.

5.1.6. Режимы культивирования

Выбор оптимального режима культивирования включает определение следующих параметров: состава среды, рН, температуры, уровня аэрации среды, влажности среды и подаваемого воздуха (для твердофазного процесса), вида пеногасителя (для глубинного процесса), продолжительности культивирования.

Уровень рН среды должен соответствовать оптимуму для роста микроорганизмов. Обычно рН устанавливают в интервале 5–7. В условиях глубинного культивирования рН регулируют подачей водного аммиака или растворов слабых кислот (ортофосфорной, уксусной). При твердофазном культивировании, где в ходе роста рН среды не регулируется, солевой состав подбирают так, чтобы обеспечить наименьшие отклонения рН среды от оптимальной величины.

Температура процесса должна быть оптимальной для роста продуцента и накопления им белка. Для дрожжей и грибов она составляет 26–30°C. Термофильные формы микроорганизмов выращивают при температуре до 65°C. При твердофазном культивировании температуру среды поддерживают за счет поступления кондиционированного воздуха, а также подачей воды в рубашку установки. При глубинном культивировании терморегуляцию осуществляют подачей горячей или холодной воды в рубашку ферментатора.

Аэрацию жидких питательных сред производят путем барботажа воздуха и перемешивания жидкости.

При твердофазном культивировании воздух расходуется не только на аэрацию, но и на теплообмен. Влажность подаваемого воздуха должна быть на уровне 98–100%, что необходимо для предотвращения высыхания твердофазной культуры.

Важным элементом технологии глубинного культивирования является пеногашение. Вспенивание среды вызывается наличием таких компонентов, как крахмал, декстрины, белки, пептиды, глюкозиды, пектиновые вещества. Вспенивание приводит к потере культуральной жидкости в результате уноса с газообразной фазой.

Для предотвращения вспенивания применяют природные (соевое, подсолнечное масла, рыбий и свиной жиры) и синтетические (адеканоль, пропинол и др.) пеногасители. Их вносят в культуральную жидкость небольшими порциями, так как передозировка может привести к замедлению и прекращению роста культуры. Для пеногашения могут использоваться также механические устройства.

Продолжительность культивирования продуцентов белка определяется кинетикой роста, накопления белка, потребления компонентов среды. Процесс целесообразно вести до начала стационарной фазы, когда накопление биомассы и белка достигает максимума. Важно контролировать динамику накопления биомассы, поскольку дальнейшее культивирование вызывает перерасход питательных сред и снижение количества белка в корме.

При выращивании микроорганизмов глубинным способом на питательных средах, не содержащих взвешенных частиц, прирост биомассы определяют турбидометрически – по величине оптической плотности культуральной жидкости. В случае применения питательных сред с диспергированными частицами и для твердофазных процессов используют косвенные методы, основанные на

определении динамики связанных с ростом показателей (тепловыделение, поглощение кислорода). Активно растущие культуры интенсивно выделяют тепло и поглощают кислород, снижение и последующая стабилизация этих показателей соответствуют переходу в фазу замедления роста и стационарную фазу.

У большинства микроорганизмов при выращивании на средах, содержащих легкоусваиваемые соединения углерода и азота, максимум накопления биомассы и белка достигается в срок не позднее суток. На средах с трудногидролизуемыми субстратами процесс идет в течение 3–10 сут

5.1.7. Продукты микробной конверсии

К белковым препаратам микробного происхождения предъявляют ряд требований. Так, в их составе ограничивают содержание нуклеиновых кислот, поскольку пуриновые основания в организме животных трансформируются в мочевую кислоту, что создает риск заболеваний почек и мочевыводящих путей.

Наиболее высоким содержанием нуклеиновых кислот (до 16%) отличается биомасса бактерий. Для дрожжей этот показатель также выше допустимого уровня и составляет до 12%. Суточная норма при кормлении животных равна 2 г нуклеиновых кислот, что соответствует 10–20 г высушенной биомассы бактерий, или 20–30 г дрожжей. Для снижения содержания нуклеиновых кислот в клетках микроорганизмы подвергают кратковременному воздействию высоких температур, а затем выдерживают несколько часов при 50–55°C, обрабатывают экзогенной рибонуклеазой или кислотами, щелочами, метанолом.

Наименьшее количество нуклеиновых кислот находится в биомассе грибов (в мицелии несовершенных грибов – 5–6%, базидиомицетов – 2–4%). Это обстоятельство наряду с другими характеристиками делает их наиболее привлекательными для получения кормовых продуктов.

Мицелий несовершенных грибов богат белковыми веществами (до 55–57% сырого протеина, 41–43% истинного белка), которые по содержанию незаменимых аминокислот ближе всего к белкам сои. В белке много лизина, основной аминокислоты, недостающей в белке зерновых культур. В состав мицелия базидиомицетов входит 43–49% сырого протеина, 24–30% истинного белка. Белок базидиальных грибов включает все незаменимые аминокислоты,

а по количеству серосодержащих аминокислот превосходит бактериальный и дрожжевой.

Грибной белок хорошо усваивается организмом животных. Например, степень усваиваемости белка *Fusarium culmorum* составляет 84%. Усваиваемость азотистых веществ дереворазрушающих грибов может достигать 80–90%. Мицелий грибов содержит также витамины группы В и другие биологически активные соединения. Это позволяет на основе зерна и грибной биомассы составлять сбалансированные кормовые смеси.

Микроорганизмы – продуценты белка не должны вызывать аллергических реакций, обладать патогенными свойствами. Кормовые белковые добавки или обогащенный белком корм не должны содержать токсинов, тяжелых металлов; регламентируется содержание канцерогенов. Для белковых препаратов ограничивают также содержание β -оксималяной кислоты в липидах, циклопропанов, разветвленных жирных кислот, жирных кислот с нечетным содержанием атомов углерода (для дрожжевого белка), что регулируется условиями культивирования. По всем перечисленным параметрам анализируют как сам белковый препарат, так и белок биомассы.

5.2. Лабораторная работа

Обогащение белком целлюлозосодержащих отходов

Вопросы для самоподготовки. 1. Характеристика отходов сельского хозяйства и деревообработки, перспективных для производства кормовых **углеводно-белковых продуктов**. 2. Методы подготовки сырья к микробной конверсии. 3. Основные критерии пригодности микроорганизмов в качестве продуцентов белка. 4. Особенности глубинной, поверхностной и твердофазной ферментации мицелиальных грибов. 5. Деструкция целлюлозосодержащих отходов представителями мицелиальных грибов и ассоциациями микроорганизмов.

Цель работы – приобретение практических навыков по выращиванию мицелиальных грибов – продуцентов белка на целлюлозосодержащих отходах; анализ качества полученного **углеводно-белкового продукта**.

Порядок выполнения работы. Приготовить питательные среды. Получить посевной материал на агаризованной среде и в качалочных колбах. Провести твердофазную ферментацию целлюлозосодержащих отходов. Определить потерю массы субстрата после ферментации. Установить содержание белка в продукте.

5.2.1. Приготовление питательных сред

Минеральная смесь служит источником макро- и микроэлементов и имеет следующий состав, г/дм³: (NH₄)₂SO₄ – 1,0; KH₂PO₄ – 0,6; K₂HPO₄ – 0,4; MgSO₄ – 0,05; ZnSO₄ – 0,005; FeSO₄ – 0,01. Соли растворяют в дистиллированной воде последовательно в указанном порядке. Устанавливают pH раствора 5,4–5,8, стерилизуют автоклавированием при давлении 0,05 МПа в течение 20 мин.

5.2.2. Приготовление посевного материала на агаризованной среде

В качестве продуцентов белка на целлюлозосодержащих отходах используют базидиомицеты *Coriolus hirsutus*, мицелиальные грибы *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *T. lignorum*, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida scottii*, *C. utilis*, *C. lipolytica*, *Endomycopsis fibuligera*, *Trichosporon cutaneum*. Применяют один из видов или ассоциацию микроорганизмов по указанию преподавателя.

Скошенную агаризованную среду в пробирках (сусло-агар) засевают густым штрихом, соблюдая правила асептики, и инкубируют в термостате при температуре 30°C на протяжении 48 ч.

5.2.3. Получение посевного материала в качалочных колбах

В стерильную качалочную колбу вместимостью 250 см³ помещают 50 см³ сусло-бульона. Засев среды в колбе производят в условиях асептики. В пробирку с культурой вливают 6–8 см³ питательной среды из колбы, бактериологической петлей тщательно ресуспендируют конидии мицелиальных грибов. В случае использования в качестве продуцента базидиомицетов снимают мицелий с агаризованной среды, стараясь разорвать гифы и ресуспендировать их в сусло-бульоне, не затрагивая агаризованную среду. Полученную суспензию возвращают в качалочную колбу. Для более полного переноса посевного материала из пробирки

операцию повторяют. Культуру выращивают в шейкере-инкубаторе при частоте встряхивания $130\text{--}140\text{ мин}^{-1}$ в течение 48 ч при температуре 30°C .

Аналогично получают посевной материал дрожжей – продуцентов белка. Частота встряхивания при выращивании дрожжей составляет $140\text{--}160\text{ мин}^{-1}$.

Полученный посевной материал используют для засева среды в чашках Петри.

5.2.4. Твердофазная ферментация целлюлозосодержащих отходов

В две чашки Петри, одну из которых предварительно взвешивают, вносят по 2,5 г сухих древесных опилок, $2,5\text{ см}^3$ культуральной жидкости продуцента из качалочной колбы (при использовании в качестве продуцента белка мицелиальных грибов) или по $1,25\text{ см}^3$ культуральной жидкости каждого продуцента при использовании ассоциации культур, $4,5\text{ см}^3$ минеральной смеси. Содержимое чашек старательно перемешивают до получения однородной массы. Определяют влажность засеянного субстрата (см. п. 5.2.5).

Содержимое чашки № 1 используют для установления исходного содержания белка одним из методов по указанию преподавателя (см. п. 5.2.7, 5.2.8).

Предварительно взвешенную чашку № 2 взвешивают снова с засеянным субстратом и рассчитывают массу субстрата до ферментации.

Посев в чашке № 2 культивируют в течение 36–48 ч (до начала спорообразования) при температуре 30°C . При использовании базидиомицетов продолжительность культивирования увеличивают до 5–7 сут

Определяют влажность полученного продукта, устанавливают в нем содержание белка и потерю массы субстрата после ферментации (см. п. 5.2.6).

5.2.5. Установление влажности субстрата и углеводно-белкового продукта

Бюкс высушивают в сушильном шкафу при температуре 105°C до неизменной массы. Затем в него помещают навеску субстрата (или углеводно-белкового продукта) массой около 1 г

и сушат в течение 3 ч. После охлаждения бюкса в эксикаторе его взвешивают, снова сушат 1 ч, охлаждают и взвешивают. Высушивание продолжают до достижения неизменной массы (разница массы между двумя взвешиваниями не должна превышать 0,0003 г). Относительную влажность субстрата W , %, рассчитывают по формуле

$$W = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m_1 - m},$$

где m_1 – масса бюкса с навеской до высушивания, г; m_2 – масса бюкса с навеской после высушивания, г; m – масса пустого бюкса, г.

5.2.6. Установление потери массы субстрата после ферментации

В процессе культивирования часть массы утилизированного субстрата переходит в биомассу продуцента. Другая часть субстрата расходуется на неконструктивный метаболизм – процессы дыхания и иную жизнедеятельность клеток. Потеря массы субстрата – величина, которая свидетельствует об интенсивности метаболических процессов продуцента: чем она больше, тем более высокий уровень метаболической активности проявляет продуцент.

Установление потери массы субстрата проводят по окончании ферментации. Для этого взвешивают чашку № 2 с углеводно-белковым продуктом и по разности с массой пустой чашки рассчитывают массу субстрата после ферментации. Потерю массы субстрата X и потерю массы по абсолютно сухому веществу $X_{\text{св}}$, %, вычисляют по следующим формулам:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m_1 - m};$$

$$X_{\text{св}} = \frac{(m_1 - m) \cdot (100 - W_1) - (m_2 - m) \cdot (100 - W_2)}{(m_1 - m) \cdot (100 - W_1)} \cdot 100,$$

где m_1 – масса склянки с субстратом до ферментации, г; m_2 – масса склянки с субстратом после ферментации, г; m – масса пустой склянки, г; W_1 – влажность исходного субстрата; W_2 – влажность углеводно-белкового продукта.

5.2.7. Определение содержания белка по методу Брэдфорда

Реактивы, материалы и оборудование: оксид алюминия (или кварцевый песок); 0,15 М раствор NaCl; яичный альбумин (овальбумин); реактив Брэдфорда; центрифуга; спектрофотометр.

Сущность метода состоит в специфическом связывании красителя кумасси бриллиантового голубого G-250 с белком, при этом максимум поглощения красителя смещается в длинноволновую область спектра.

5.2.7.1. Приготовление реактивов. Реактив Брэдфорда. Растворяют 100 мг кумасси бриллиантового голубого G-250 в 50 см³ 95%-ного этанола. К раствору добавляют 100 см³ 85%-ной фосфорной кислоты и доводят до 1 дм³ дистиллированной водой, фильтруют, хранят при 20°C в течение 2 недель.

5.2.7.2. Ход анализа. Для извлечения белка из биомассы продуцента навеску массой 1 г растирают в ступке с 300 мг оксида алюминия или кварцевого песка. Пасту количественно переносят в коническую колбу вместимостью 100 см³, заливают 50 см³ 0,15 М раствора NaCl и экстрагируют при перемешивании на протяжении 30 мин при комнатной температуре. Осадок отделяют центрифугированием в течение 10 мин при 5000 мин⁻¹. Супернатант декантируют, измеряют его объем и определяют содержание в нем белка по методу Брэдфорда. Для этого 1 см³ супернатанта разбавляют в 50–100 раз 0,15 М раствором NaCl и к 0,15 см³ разбавленного раствора белка приливают 2,5 см³ раствора красителя, тщательно перемешивают и измеряют величину экстинкции при 595 нм против холостой пробы (0,15 см³ 0,15 М раствора NaCl + 2,5 см³ раствора красителя).

Для установления концентрации белка в растворе необходимо построить калибровочный график. Для этого готовят раствор яичного альбумина с концентрацией 200 мкг/см³ (10 мг белка растворяют в 50 см³ 0,15 М раствора NaCl), затем производят разбавление исходного раствора согласно табл. 5.1.

Таблица 5.1

Данные для построения калибровочного графика

Номер пробирки	Концентрация белка, мкг/см ³	Объем раствора белка-стандарта, см ³	Объем 0,15 М раствора NaCl, см ³	D_{595}
1	10	0,5	9,50	
2	20	0,5	4,50	

Окончание табл. 5.1

Номер пробирки	Концентрация белка, мкг/см ³	Объем раствора белка-стандарта, см ³	Объем 0,15 М раствора NaCl, см ³	D_{595}
3	30	0,5	2,80	
4	40	0,5	2,00	
5	50	1,0	3,00	
6	60	1,0	2,30	
7	70	1,0	1,85	
8	80	1,0	1,50	
9	90	1,0	1,20	
10	100	1,0	1,00	

Отбирают по 0,5 см³ каждого разбавления, добавляют 2,5 см³ раствора красителя и измеряют величину экстинкции так, как и для рабочего раствора. Затем по построенному калибровочному графику зависимости D_{595} от концентрации белка определяют концентрацию белка в растворе (мг/см³) и рассчитывают содержание белка Б, %, в сухой массе субстрата (или углеводно-белкового продукта) по формуле

$$B = \frac{a \cdot V \cdot n \cdot 100}{g \cdot (1 - 0,01 \cdot W) \cdot 1000},$$

где a – концентрация белка в расте, мкг/см³; V – объем раствора, см³; n – разбавление исходного раствора белка; g – навеска субстрата (или углеводно-белкового продукта), г; W – влажность субстрата (или углеводно-белкового продукта), %.

5.2.8. Определение содержания белка по методу Варбурга и Христиана

Реактивы, материалы и оборудование: оксид алюминия (или кварцевый песок); 0,3%-ный раствор Na₂CO₃ в 0,6 М растворе NaCl; центрифуга; спектрофотометр.

Суть метода заключается в измерении оптической плотности белкового экстракта при 280 и 260 нм. Большинство белков имеет максимум поглощения при 280 нм, что обусловлено содержанием в них остатков триптофана и тирозина. Нуклеиновые кислоты, присутствующие часто в виде примесей к белкам, также обладают сильным поглощением при 280 нм, но максимум поглощения этих соединений находится при 260 нм. Экспериментально установле-

ны коэффициенты экстинкции различных белков и нуклеиновых кислот при 260 и 280 нм и найдено соотношение этих коэффициентов, т. е. фактор F (табл. 5.2).

5.2.8.1. Ход анализа. Для извлечения белка из биомассы продуцента навеску влажного углеводно-белкового продукта (2–3 г) растирают в чашке с 1 г оксида алюминия или кварцевого песка. Пасту количественно переносят в коническую колбу вместимостью 100 см³, заливают 50 см³ 0,3%-ного раствора Na₂CO₃ в 0,6 М растворе NaCl и перемешивают на магнитной мешалке 30 мин при комнатной температуре. Суспензию центрифугируют при 5000 мин⁻¹ в течение 10 мин. Осадок отбрасывают, а супернатант используют для установления концентрации белка. Измеряют оптическую плотность раствора белка при длинах волн 260 и 280 нм.

Таблица 5.2

Соотношение коэффициентов экстинкции

$A_{280/260}$	Нуклеиновая кислота, %	F
1,750	0,0	1,116
1,520	0,5	1,054
1,360	1,0	0,994
1,160	2,0	0,899
1,030	3,0	0,814
0,939	4,0	0,743
0,874	5,0	0,682
0,822	6,0	0,632
0,784	7,0	0,585
0,753	8,0	0,545
0,730	9,0	0,508
0,705	10,0	0,476
0,645	14,0	0,377
0,595	20,0	0,270

5.2.8.2. Расчет. Вычисляют соотношение полученных величин, по табл. 5.2 находят соответствующее значение F и рассчитывают содержание белка в сухой массе субстрата (или углеводно-белкового продукта) B , %, по формуле

$$B = \frac{F}{l \cdot D_{280}} \cdot \frac{50 \cdot 100}{g};$$

где l – толщина кюветы, равная 1 см; $\frac{F}{l \cdot D_{280}}$ – концентрация белка в

экстракте, мг/см³; 50 – общий объем экстракта, см³; g – навеска субстрата (или углеводно-белкового продукта), мг.

При невозможности рассчитать концентрацию белка через фактор F используют формулу

$$B = (1,55 \cdot D_{280} - 0,76 \cdot D_{260}) \cdot \frac{50 \cdot 100}{g},$$

где D_{280} , D_{260} – оптическая плотность раствора белка при длинах волн 280 и 260 нм соответственно; 50 – общий объем экстракта, см³; g – навеска субстрата (или углеводно-белкового продукта), мг.

5.2.9. Расчет продуктивности культуры

Прирост биомассы Y , %, определяют по формуле

$$Y = \frac{(X_2 - X_1) \cdot 100}{X_1},$$

где X_2 , X_1 – содержание белка в углеводно-белковом продукте и засеянном субстрате до ферментации соответственно, %.

БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

6.1. Экологическая опасность синтетических полимеров

Полимерные материалы (пластмассы, композиты, пластики) – это композиции определенного состава, полученные на основе полимеров природного или искусственного происхождения. Полимеры являются связующими веществами, кроме них в составе композиций содержатся наполнители (органические или минеральные), пластификаторы, стабилизаторы, отвердители, красители. Объемы выпуска полимерных материалов достигают 180 млн т в год и ежегодно возрастают на 25 млн т.

Преимуществами полимерных материалов и изделий из них являются:

- постоянно пополняемая сырьевая база за счет синтеза новых полимеров с заранее заданными свойствами;
- невысокий расход смол на единицу готовой продукции;
- простота переработки полимерных материалов в изделия любого (даже весьма сложного) профиля с образованием минимума отходов;
- способность полимеров образовывать тонкие прочные пленки;
- широкие технологические возможности получения материалов и изделий с заданными характеристиками, отвечающими функциональным, эксплуатационным, эстетическим и экономическим требованиям;
- ценный комплекс свойств: сочетание легкости и прочности, водо-, паро- и газонепроницаемость, химическая стойкость, электроизоляционные и диэлектрические свойства, эластичность, неподверженность коррозии и др.;
- способность принимать любую окраску и фактуру.

Наряду с этими уникальными свойствами и относительно низкой ценой синтетические полимеры имеют недостатки:

1) подавляющее большинство полимеров производится из невозобновляемого углеводородного сырья, запасы которого ограничены;

2) синтетические полимеры не разлагаются в природных условиях, что приводит к загрязнению окружающей среды и создает проблемы их утилизации.

Экологические мотивы уже заставляют многие страны и регионы ограничивать применение синтетических полимеров. Так, в Тайване (2003 г.), Лос-Анджелесе (2007 г.), Италии (2010 г.) полимерные пакеты запрещены к использованию во всех торговых центрах. С пластиковыми пакетами борются в Кении, Руанде, Танзании. Во многих странах Европы существуют налоги на пластиковые пакеты.

Возможными направлениями переработки отходов синтетических полимерных материалов являются сжигание, пиролиз, рециклинг (повторная переработка), однако основным способом остается депонирование на полигонах.

Сжигание и пиролиз отходов пластмасс кардинально не улучшают экологическую обстановку; рециклинг экологичнее, но требует значительных трудовых и энергетических затрат: отбор пластика из отходов, разделение их по видам, мойка, сушка, измельчение и только затем переработка. Кроме того, остро стоит вопрос допустимой кратности рециклинга, после чего вновь приходится выбирать между захоронением и сжиганием остатков. Даже в развитых странах повторной переработке подвергается не более 16–20% отходов полимерных материалов.

6.2. Получение биоразлагаемых полимеров

Самым оптимальным решением проблемы утилизации отработанных полимерных материалов, по мнению специалистов, является создание и освоение широкого круга полимеров и композиций с регулируемым сроком службы. Отличительная особенность этих материалов – способность сохранять потребительские свойства в течение всего необходимого периода эксплуатации, после чего они должны быстро разрушаться в естественных условиях до низкомолекулярных соединений, способных участвовать в природном круговороте веществ. Такие полимерные материалы называют биоразлагаемыми (биodeградебельными, биополимерами).

Биополимеры после окончания срока службы должны разрушаться под действием микроорганизмов, высоких температур либо ультрафиолетовой, γ - или электронной радиации.

Создание биоразлагаемых полимерных материалов в настоящее время является приоритетным направлением научно-исследовательских и практических разработок, реализация которых позволит минимизировать загрязнение окружающей среды полимерными отходами. Гиганты современной полимерной индустрии – CargillDow, BAYER AG, Fardis, BASF, EastmanChemical, Stalenco, MY SharpInterpack – заявляют о возможности массового внедрения в быт экологически безопасных пластиков. Во многих странах Европы созданы государственные программы финансовой и законодательной поддержки производства и использования биоразлагаемых полимеров.

За последние годы мировое потребление биополимерных материалов увеличилось в 2 раза, причем наибольшие темпы роста отмечаются в Японии.

На современном этапе выделяют три основных направления в разработке биоразлагаемых пластмасс:

- использование полиэфиров гидроксикарбоновых кислот;
- получение пластических масс на основе воспроизводимого природного сырья;
- придание промышленным полимерным материалам способности биодegradации.

6.3. Методы оценки биоразлагаемости полимеров

Тот факт, что первые разработанные биоразлагаемые полимеры не разлагались надлежащим образом, заставил Американское общество по испытанию материалов сформулировать само понятие «биоразлагаемость» – «способность подвергаться разложению на углекислый газ, метан, воду, неорганические компаунды или биомассы, при котором преобладающим механизмом является энзимное действие микроорганизмов, которое можно измерить с помощью стандартизированных испытаний в течение определенного периода времени с отражением имеющихся условий утилизации».

Многие так называемые биоразлагаемые полимеры являются на самом деле биоэродируемыми, гидробиоразлагаемыми или же

фотобиоразлагаемыми, т. е. подверженными (хотя бы на первой стадии) растворению в воде, окислительному или ультрафиолетовому охрупчиванию (переходу из вязкого состояния в хрупкое). Для характеристики таких полимеров более уместным является термин «экологически разлагаемые полимеры».

По мере увеличения объемов выпуска биоразлагаемых полимерных материалов важное значение приобретает разработка нормативных требований, касающихся методологии испытаний и количественного определения параметров процесса разложения таких материалов.

Методы оценки биоразлагаемости полимерных материалов можно классифицировать по различным признакам:

1) в зависимости от условий проведения испытаний: лабораторные и натурные (в естественных условиях);

2) по продолжительности: длительные и экспресс-методы;

3) исходя из уровня регламентации: стандартизованные и не стандартизованные;

4) в соответствии с определяемым параметром полимерных материалов: масса, деформационно-прочностные показатели, степень деградации макро-, микро- и молекулярной структуры образцов, молекулярно-массовое распределение полимерного связующего и др.;

5) по составу и свойствам биологической системы, в которой протекает деструкция: дыхательная активность (по потреблению кислорода или выделению диоксида углерода), выделение биогаза в анаэробных условиях, кислотность, химический и микробиологический состав почвы или другой среды.

Наиболее простым и недорогим, не требующим специального оборудования является метод определения степени разложения пластмассовых материалов в имитированных условиях компостирования при лабораторных испытаниях (ISO 20200:2015). В соответствии с данным методом готовится синтетический отход, который инокулируется зрелым компостом, обеспечивающим достаточное количество микроорганизмов. Проверяемый полимерный материал измельчают, смешивают с синтетическим отходом и помещают смесь в реактор, обеспечивающий эффективный газообмен, поддержание влажности (55%) и мезофильный (25°C) или термофильный (58°C) температурный режим. О степени деструкции проверяемого полимерного материала судят по убыли массы.

6.4. Лабораторная работа. Определение степени деструкции растительных отходов и полимерных материалов в условиях компостирования

Вопросы для самоподготовки. 1. Экологическая опасность синтетических полимеров. 2. Преимущества биоразлагаемых полимерных материалов, направления их разработки. 3. Преимущества использования биополимеров. 4. Методы оценки биоразлагаемости полимеров. 5. Микробиологические и биохимические аспекты процесса компостирования. 6. Оптимальные параметры процесса компостирования.

Цель работы – установление степени деструкции растительных отходов и полимерных материалов в условиях компостирования.

Порядок выполнения работы. Подготовить отходы к компостированию. Провести компостирование с периодическим перемешиванием и контролем влажности. Установить степень деструкции растительных отходов и полимерных материалов. Сделать заключение о способности полимерных материалов к биодеструкции.

6.4.1. Подготовка растительных отходов и полимерных материалов к компостированию

Реактивы, материалы и оборудование: нитрат аммония; двойной суперфосфат ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$); хлорид калия; полимерный материал; солома; отходы растениеводства; древесные опилки; кора древесины; вакуумный сушильный шкаф; эксикатор; бюкс.

В качестве компостируемого растительного материала используют солому, отходы растениеводства, древесные опилки, кору хвойно-лиственных пород древесины и др. В отходах определяют влажность, содержание легко- и трудногидролизуемых полисахаридов.

Для компостирования берут 1 кг отходов известной влажности, добавляют воду до влажности 55%, смешивают с солями, содержащими азот, фосфор и калий. Используют нитрат аммония, двойной суперфосфат ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) и хлорид калия с таким расчетом, чтобы обеспечить содержание основных элементов в количестве, приведенном в табл. 6.1. В растительные отходы вносят

измельченный полимерный материал, который проверяют на способность к биодеструкции.

Таблица 6.1

Содержание основных элементов в компостируемом материале

Номер варианта	Содержание элемента, % от абсолютно сухого вещества		
	N	P (в пересчете на P ₂ O ₅)	K (в пересчете на K ₂ O)
1	1,0	0,25	0,25
2	1,5	0,50	0,25
3	2,0	0,75	0,25

Полимерный материал берут в количестве 0,5–2,0% от массы растительных отходов. Степень измельчения полимерного материала зависит от его толщины. При толщине <5 мм размер кусков должен составлять 25×25 мм, если толщина материала от 5 до 10 мм, его измельчают до кусков 15×15 мм. Материал высушивают под вакуумом при (40 ± 2)°С до постоянной массы, записывают исходную массу ($m_{п. исх}$). Перед смешиванием с растительными отходами замачивают проверяемый материал в дистиллированной воде не менее чем на 30 с.

6.4.1.1. Установление влажности отходов и доведение ее до требуемого значения. Бюкс с крышкой высушивают в сушильном шкафу при температуре 105°С до постоянной массы. В него помещают навеску растительного материала массой около 1 г и сушат при тех же условиях на протяжении 3 ч. После охлаждения бюкса в эксикаторе его взвешивают, снова сушат в течение 1 ч и взвешивают. Так повторяют до неизменной массы.

Расчет влажности отходов. Влажность отходов W , %, рассчитывают по формуле

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \cdot 100,$$

где m_1 – масса бюкса с навеской до высушивания, г; m_2 – масса бюкса с навеской после высушивания, г; m – масса пустого бюкса, г.

Расчет количества воды для увлажнения отходов. Количество воды $M_{\text{воды}}$, г, для увлажнения отходов вычисляют по формуле

$$M_{\text{воды}} = \frac{M \cdot (100 - W)}{100 - W_{\text{тр}}} - M,$$

где M – исходная масса отходов, г; W – исходная влажность отходов, %; $W_{\text{тр}}$ – требуемая влажность отходов, % (принимается 55%).

6.4.1.2. Установление легкогидролизуемых полисахаридов.

Реактивы и оборудование: 2%-ный раствор соляной кислоты; 0,1%-ный водный раствор метилового оранжевого; коническая колба емкостью 500 см³; обратный холодильник; колба Бунзена; воронка Бюхнера; мерная колба на 500 см³; эбулиостат; бюретка.

Ход анализа. Навеску растительных отходов известной влажности массой около 5 г помещают в коническую колбу емкостью 500 см³, прибавляют 200 см³ 2%-ного раствора соляной кислоты и кипятят с обратным холодильником в течение 3 ч. После окончания гидролиза проводят фильтрование на воронке Бюхнера с бумажным фильтром. Остаток на фильтре промывают горячей водой до отрицательной реакции на кислоту по метиловому оранжевому, нанося каплю его раствора из капельницы а остаток на фильтре. В присутствии кислоты индикатор принимает красноватый оттенок, в этом случае промывку продолжают. Если индикатор не изменяет цвета, промывку считают законченной, промытый остаток на фильтре используют для установления трудногидролизуемых полисахаридов. Фильтрат и промывные воды переносят в мерную колбу емкостью 500 см³, после охлаждения доводят объем дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. В полученном растворе определяют содержание редуцирующих веществ (РВ) эбулиостатическим методом (см. п. 6.4.1.4).

Массовую долю легкогидролизуемых полисахаридов $X_{\text{л}}$, %, по отношению к абсолютно сухому сырью рассчитывают по формуле

$$X_{\text{л}} = \frac{c_{\text{л}} \cdot k_{\text{л}} \cdot V \cdot \rho \cdot 100}{g \cdot 100},$$

где $c_{\text{л}}$ – массовая доля РВ в гидролизате легкогидролизуемых полисахаридов, %; $k_{\text{л}}$ – коэффициент пересчета моносахаридов в полисахариды (для расчетов используют $k_{\text{л}} = 0,89$ для гидролизатов древесины хвойных пород и $k_{\text{л}} = 0,88$ для гидролизатов древесины лиственных пород); V – объем гидролизата, см³ (500 см³); ρ – плотность гидролизата, г/см³ (принимают 1 г/см³); g – масса абсолютно сухой навески растительных отходов, г.

6.4.1.3. Установление трудногидролизуемых полисахаридов.

Реактивы: 80%-ный раствор H₂SO₄; 20%-ный раствор NaOH; 0,1%-ный водный раствор метилового оранжевого; обратный

холодильник; колба Бунзена; воронка Бюхнера; эбулиостат; бюретка; стакан емкостью 100 см³; коническая колба емкостью 1 дм³; мерная колба на 100 см³.

Ход анализа. Остаток растительных отходов после гидролиза легкогидролизуемых полисахаридов и промывки (см. п. 6.4.1.2) количественно переносят с фильтра в стакан емкостью 100 см³ и подсушивают при температуре 50–60°C до воздушно-сухого состояния, после чего обрабатывают 35–40 см³ 80%-ного раствора H₂SO₄ при комнатной температуре в течение 3 ч, периодически помешивая стеклянной палочкой. Смесь из стакана количественно переносят в коническую колбу емкостью 1 дм³, промывая дистиллированной водой в количестве 600 см³. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят на протяжении 3 ч. После окончания дополнительного гидролиза раствор фильтруют через воронку Бюхнера с бумажным фильтром. Остаток на фильтре промывают небольшими порциями горячей воды до отрицательной реакции на кислоту по метиловому оранжевому.

Фильтрат и промывные воды переносят в мерную колбу емкостью 1 дм³, после охлаждения доводят объем дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

Из полученного раствора отбирают пипеткой 50 см³ в мерную колбу на 100 см³ и осторожно (по каплям) при постоянном перемешивании нейтрализуют 20%-ным раствором NaOH по метиловому оранжевому. Объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. В нейтрализованном растворе содержание редуцирующих веществ устанавливают эбулиостатическим методом (см. п. 6.4.1.4).

Массовую долю трудногидролизуемых полисахаридов X_T , %, по отношению к абсолютно сухому сырью находят по формуле

$$X_T = \frac{c_T \cdot k_T \cdot V \cdot \rho \cdot n \cdot 100}{g \cdot 100},$$

где c_T – массовая доля РВ в нейтрализованном гидролизате трудногидролизуемых полисахаридов, %; k_T – коэффициент пересчета моносахаридов в полисахариды ($k_T = 0,90$); V – общий объем кислого гидролизата, см³ (1000 см³); ρ – плотность гидролизата, г/см³ (принимают 1 г/см³); n – разбавление гидролизата при нейтрализации ($n = 100 / 50 = 2$); g – масса абсолютно сухой навески растительных отходов, г.

6.4.1.4. Определение содержания редуцирующих веществ в гидролизате и отработанной культуральной жидкости.

Реактивы, материалы и оборудование: растворы I и II для определения редуцирующих веществ; глюкоза; эбулиостат; бюретка.

Приготовление реактивов:

а) раствор I для определения редуцирующих веществ.

10 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и 0,04 г метиленовой сини отвешивают на аналитических весах, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм³ с помощью дистиллированной воды, объем раствора доводят до метки и перемешивают;

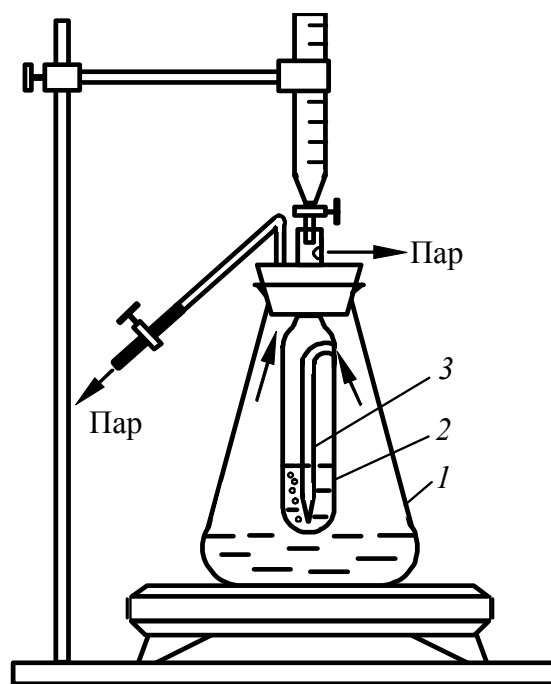
б) раствор II для определения редуцирующих веществ. 50 г сегнетовой соли (К-На виннокислый) помещают в стакан и растворяют в 200–300 см³ дистиллированной воды. В другом стакане в 100 см³ дистиллированной воды растворяют 4 г желтой кровяной соли. В мерную колбу вместимостью 1 дм³ вливают 150 см³ 50%-ного раствора гидроксида натрия и раствор сегнетовой соли, перемешивают, добавляют раствор желтой кровяной соли и воду до метки, снова перемешивают.

Ход анализа. Эбулиостатический метод основан на восстановлении меди редуцирующим сахаром в щелочной среде при кипячении в присутствии желтой кровяной соли. Образующаяся закись меди не выпадает в осадок, а остается в растворе, давая хорошо растворимое комплексное соединение с желтой кровяной солью. Реакцию проводят в условиях прямого или обратного (в случае очень разбавленных или темных растворов) титрования горячего медно-щелочного раствора раствором редуцирующих веществ в токе водяного пара. Индикатором конца реакции служит метиленовая синь, которая в окислительной среде имеет синюю окраску, а в восстановительной – бесцветна.

Эбулиостат (рисунок) состоит из сосуда 1 (плоскодонная колба), в который через пробку вставлен внутренний сосуд 2, представляющий собой пробирку, суженную кверху. Внутри сосуда 2 имеется стеклянная трубочка 3, доходящая почти до дна и соединенная с внутренней полостью сосуда 1 отверстием. В сосуд 1 заливают воду, при закипании которой пар поступает через боковое отверстие в сосуд 2.

Над эбулиостатом на штативе крепят бюретку, в пробке эбулиостата находится трубочка с резиновым наконечником и зажимом на конце для регулирования давления пара во внешнем сосуде 1.

Сосуд 2 должен слегка касаться воды. Эбулиостат устанавливают таким образом, чтобы кончик бюретки входил в суженное отверстие сосуда 2. Нагревают воду до кипения, вынимают внутренний сосуд вместе с пробкой и заливают в него пипетками 5 см^3 раствора I и 5 см^3 раствора II. Растворы перемешивают и помещают сосуд в колбу. В верхнюю часть эбулиостата вставляют бюретку. Как только жидкость в эбулиостате закипит, начинают приливать по каплям анализируемый гидролизат, предварительно разбавленный в 5–20 раз. Интенсивность кипения жидкости в эбулиостате регулируют при помощи отводной трубки с зажимом. Окраска раствора изменяется от темно-синей через красно-фиолетовую до желтой или желто-зеленой (конец титрования). Если через 1–2 мин окраска раствора не изменится, прибор разбирают, эбулиостат промывают водой и анализ повторяют снова. Необходимо провести не менее трех параллельных анализов.



Определение редуцирующих веществ эбулиостатическим методом:

1 – плоскодонная колба; 2 – внутренний сосуд; 3 – трубка

Количество раствора, пошедшего на титрование в разных определениях, не должно отличаться более чем на $0,1\text{--}0,2 \text{ см}^3$. Из полученных значений находят среднее и рассчитывают содержание РВ в растворе $C_{РВ}$, %, по формуле

$$C_{\text{РВ}} = \frac{n \cdot T \cdot 100}{V \cdot 1000},$$

где n – разбавление; T – титр медно-щелочного раствора по глюкозе (количество глюкозы, которое пошло на восстановление 10 см³ медно-щелочного раствора при данных условиях титрования), мг; V – объем гидролизата, израсходованного на титрование, см³.

Титр медно-щелочного раствора по глюкозе устанавливают отдельным титрованием раствором глюкозы с концентрацией 1 мг/см³. Титр T , мг, рассчитывают по формуле

$$T = c \cdot V_{\text{г}},$$

где c – концентрация раствора глюкозы, мг/см³; $V_{\text{г}}$ – объем раствора глюкозы, пошедшего на титрование, см³.

6.4.2. Компостирование растительных отходов и полимерных материалов

Оборудование: коробка с отверстиями; термостат.

Подготовленную к компостированию смесь растительных отходов и пластмасс равномерным слоем, без уплотнения, размещают в реакторе для компостирования. Реактор представляет собой коробку из полипропилена размером 30×20×10 см. Газообмен в коробке обеспечивается двумя отверстиями диаметром 5 мм, проделанными на расстоянии 6,5 см от дна в двух противоположных стенках по ширине коробки. Во избежание испарения коробку закрывают крышкой и оклеивают скотчем.

Коробку с материалом помещают в термостат для поддержания термофильных условий ((58 ± 2)°С) на 45–90 сут. В процессе компостирования наблюдают за внешним видом материала, при необходимости добавляют воду, материал должен быть увлажненным, но без свободной влаги (табл. 6.2).

Таблица 6.2

Режим увлажнения компостируемого материала

Сутки компостирования	Операция
0	Записывают начальную массу реактора
1, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 14	Взвешивают реактор, при необходимости добавляют воду до первоначальной массы. Перемешивают компостируемую смесь

Окончание табл. 6.2

Сутки компостирования	Операция
8, 10, 16, 18, 21, 23, 25, 28	Взвешивают реактор, при необходимости добавляют воду до первоначальной массы. Не перемешивают
30, 45	Взвешивают реактор, при необходимости добавляют воду до 80% первоначальной массы. Перемешивают компостируемую смесь
От 30 до 60, 2 раза в неделю	Взвешивают реактор, при необходимости добавляют воду до 80% первоначальной массы. Не перемешивают
От 60, 2 раза в неделю	Взвешивают реактор, при необходимости добавляют воду до 70% первоначальной массы. Не перемешивают

В первые 2–3 сут появляется кислый запах, затем, на 5–10 сут – аммонийный, после 10 сут компостирования запах становится землистым либо исчезает. В течение первых двух недель формируется мицелий, наблюдается потемнение материала.

6.4.3. Установление степени деструкции и растительных отходов и полимерных материалов

Оборудование: вакуумный сушильный шкаф; термостат; сита с размерами отверстий 10, 5, 2 мм; аналитические весы.

По истечении времени компостирования содержимое реактора подсушивают при температуре $(58 \pm 2)^\circ\text{C}$ и циркуляции воздуха до постоянной массы. Полученный компост просеивают через сито, начиная с размера отверстий 10 мм, затем 5 и 2 мм. Каждый раз собирают с сита остатки полимерного материала, очищают их от компоста, промывают водой, высушивают при $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ под вакуумом до постоянной массы. Отдельно собирают гумифицированные остатки растительного материала, определяют массу, влажность, содержание легко- и трудногидролизуемых полисахаридов, гумусовых веществ (см. п. 6.4.4).

Степень деструкции полимерного материала D , %, рассчитывают по формуле

$$D = \frac{m_{\text{п. кон}}}{m_{\text{п. исх}}} \cdot 100,$$

где $m_{\text{п. кон}}$ – масса полимерного материала после компостирования, г; $m_{\text{п. исх}}$ – исходная масса полимерного материала, г.

Коэффициент уменьшения массы растительных отходов K_M вычисляют по формуле

$$K_M = \frac{m_{p.исх} \cdot (100 - W_{исх}) - m_{p.кон} \cdot (100 - W_{кон})}{m_{p.исх} \cdot (100 - W_{исх})},$$

где $m_{p.исх}$ – исходная масса растительных отходов, г; $W_{исх}$ – исходная влажность растительных отходов, %; $m_{p.кон}$ – масса гумифицированных растительных отходов, г; $W_{кон}$ – влажность гумифицированных растительных отходов, %.

Степень деструкции углеводного комплекса растительных отходов рассчитывают по легко- и трудногидролизуемым полисахаридам.

Коэффициент деструкции легкогидролизуемых полисахаридов K_L определяют по формуле

$$K_L = 1 - \frac{X_{л.кон} \cdot (1 - K_M)}{X_{л.исх}},$$

где $X_{л.кон}$ – содержание легкогидролизуемых полисахаридов после компостирования, %; K_M – коэффициент уменьшения массы растительных отходов; $X_{л.исх}$ – содержание легкогидролизуемых полисахаридов в исходных растительных отходах, %.

Коэффициент деструкции трудногидролизуемых полисахаридов K_T находят по формуле

$$K_T = 1 - \frac{X_{т.кон} \cdot (1 - K_M)}{X_{т.исх}},$$

где $X_{т.кон}$ – содержание трудногидролизуемых полисахаридов после компостирования, %; $X_{т.исх}$ – содержание трудногидролизуемых полисахаридов в исходных растительных отходах, %.

6.4.4. Установление содержания в компосте гумусовых веществ

Реактивы и оборудование: 0,1 н. раствор NaOH; 10%-ный раствор HCl; сушильный шкаф; коническая колба емкостью 500 см³; обратный холодильник; водяная баня; стеклянный фильтр с диаметром пор 100 мкм.

6.4.4.1. Ход анализа. Навеску гумифицированных растительных отходов (6 г) известной влажности помещают в коническую колбу емкостью 500 см³ и заливают 0,1 н. раствором NaOH

в количестве 200 см^3 . После присоединения к колбе обратного холодильника реакционную смесь выдерживают на водяной бане при температуре 80°C в течение 1,5 ч. Содержимое колбы охлаждают при комнатной температуре и отстаивают на протяжении суток. После этого жидкость декантируют, а к остатку добавляют свежую порцию раствора NaOH и снова выдерживают на водяной бане при температуре 80°C в течение 1 ч. Колбу с реакционной массой охлаждают и выдерживают при комнатной температуре на протяжении суток, после чего разделяют твердую и жидкую часть фильтрованием через предварительно взвешенный бумажный фильтр. Остаток на фильтре промывают горячей дистиллированной водой до нейтральной реакции, высушивают в сушильном шкафу при температуре 100°C до постоянной массы.

6.4.4.2. Расчет. Массовую долю гумусовых веществ $M_{\text{ГВ}}$, %, рассчитывают по формуле

$$M_{\text{ГВ}} = \frac{m_{\text{исх}} - m_{\text{кон}}}{m_{\text{исх}}} \cdot 100,$$

где $m_{\text{исх}}$ – исходная масса гумифицированных растительных отходов, г; $m_{\text{кон}}$ – масса отходов после обработки щелочью, г.

Фильтраты смешивают с промывными водами, тщательно перемешивают и постепенно при перемешивании приливают к ним 10%-ный раствор HCl до достижения значения pH 1–2. После отстаивания отделяют полученный осадок от раствора фульвокислот фильтрованием на стеклянном фильтре с диаметром пор 100 мкм. Осадок (гуминовые кислоты) промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции и высушивают до воздушно-сухого состояния.

Выход гуминовых кислот $M_{\text{ГК}}$, %, определяют по формуле

$$M_{\text{ГК}} = \frac{m_{\text{ГК}}}{m_{\text{исх}}} \cdot 100,$$

где $m_{\text{ГК}}$ – масса гуминовых кислот, выделенных из навески гумифицированных отходов, г; $m_{\text{исх}}$ – исходная масса гумифицированных растительных отходов, г.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Равновесные концентрации кислорода

Температура, °C	Растворенный кислород, мг/дм ³									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0	14,65	14,61	14,57	14,53	14,49	14,45	14,41	14,37	14,33	14,29
1	14,25	14,21	14,17	14,13	14,09	14,05	14,02	13,98	13,94	13,90
2	13,86	13,82	13,79	13,75	13,71	13,68	13,64	13,60	13,56	13,53
3	13,49	13,46	13,42	13,38	13,35	13,31	13,28	13,24	13,20	13,17
4	13,13	13,10	13,06	13,03	13,00	12,96	12,93	12,89	12,86	12,82
5	12,79	12,76	12,72	12,69	12,66	12,62	12,59	12,56	12,53	12,49
6	12,46	12,43	12,40	12,36	12,33	12,30	12,27	12,24	12,21	12,18
7	12,14	12,11	12,08	12,05	12,02	11,99	11,96	11,93	11,90	11,87
8	11,84	11,81	11,78	11,75	11,72	11,70	11,67	11,64	11,61	11,58
9	11,55	11,52	11,49	11,47	11,44	11,41	11,38	11,35	11,33	11,30
10	11,27	11,24	11,22	11,19	11,16	11,14	11,11	11,08	11,06	11,03
11	11,00	10,98	10,95	10,93	10,90	10,87	10,85	10,82	10,80	10,77
12	10,75	10,72	10,70	10,67	10,65	10,62	10,60	10,57	10,55	10,52
13	10,50	10,48	10,45	10,43	10,40	10,38	10,36	10,33	10,31	10,28
14	10,26	10,24	10,22	10,19	10,17	10,15	10,12	10,10	10,08	10,06
15	10,03	10,01	9,99	9,97	9,95	9,92	9,90	9,88	9,86	9,84
16	9,82	9,79	9,77	9,75	9,73	9,71	9,69	9,67	9,65	9,63
17	9,61	9,58	9,56	9,54	9,52	9,50	9,48	9,46	9,44	9,42
18	9,40	9,38	9,36	9,34	9,32	9,30	9,29	9,27	9,25	9,23
19	9,21	9,19	9,17	9,15	9,13	9,12	9,10	9,08	9,06	9,04
20	9,02	9,00	8,98	8,97	8,95	8,93	8,91	8,90	8,88	8,86
21	8,84	8,82	8,81	8,79	8,77	8,75	8,74	8,72	8,70	8,68
22	8,67	8,65	8,63	8,62	8,60	8,58	8,56	8,55	8,53	8,52
23	8,50	8,48	8,46	8,45	8,43	8,42	8,40	8,38	8,37	8,35
24	8,33	8,32	8,30	8,29	8,27	8,25	8,24	8,22	8,21	8,19
25	8,18	8,16	8,14	8,13	8,11	8,11	8,08	8,07	8,05	8,04
26	8,02	8,01	7,99	7,98	7,96	7,95	7,93	7,92	7,90	7,89
27	7,87	7,86	7,84	7,83	7,81	7,80	7,78	7,77	7,75	7,74
28	7,72	7,71	7,69	7,68	7,66	7,65	7,64	7,62	7,61	7,59
29	7,58	7,56	7,55	7,54	7,52	7,51	7,49	7,48	7,47	7,45
30	7,44	7,42	7,41	7,40	7,38	7,37	7,35	7,34	7,32	7,31

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркевич, Р. М. Электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» по дисциплине «Биотехнологическая переработка промышленных отходов» / Р. М. Маркевич, И. А. Гребенчикова, М. В. Рымовская. – Минск: БГТУ, 2018. – 301 с.
2. Ручай, Н. С. Экологическая биотехнология: учеб. пособие для студентов специальности «Биоэкология» / Н. С. Ручай, Р. М. Маркевич. – Минск: БГТУ, 2006. – 312 с.
3. Харькина, О. В. Эффективная эксплуатация и расчет сооружений биологической очистки сточных вод / О. В. Харькина. – Волгоград: Панорама, 2015. – 433 с.
4. Долина, Л. Ф. Очистка сточных вод от биогенных элементов: монография / Л. Ф. Долина. – Днепропетровск: Континент, 2011. – 198 с.
5. Трунов, П. В. Особенности процесса очистки сточных вод в погружных мембранных биореакторах / П. В. Трунов // Коммунальное хозяйство городов: науч.-техн. сб. – Киев: Техника, 2010. – Вып. 93. – С. 133–137.
6. Емельянова, И. З. Химико-технический контроль гидролизных производств / И. З. Емельянова. – М.: Лесная пром-сть, 1976. – 328 с.
7. Лурье, Ю. Ю. Химический анализ производственных сточных вод / Ю. Ю. Лурье, А. И. Рыбникова. – М.: Химия, 1974. – 336 с.
8. Жмур, Н. С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками / Н. С. Жмур. – М.: АКВАРОС, 2003. – 512 с.
9. Фауна аэротенков: атлас / А. А. Айсаев [и др.]; отв. ред. Л. А. Кутикова. – Л.: Наука. Ленинград. отделение, 1984. – 264 с.
10. Жмур, Н. С. Комплект методик по гидрохимическому контролю активного ила: определение массовой концентрации активного ила, илового индекса, зольности сырого осадка, активного ила, прозрачности надильной воды: ФР 1.31.2008.04397, ФР 1.31.2008.04398, ФР 1.31.2008.04399, ФР 1.31.2008.04400. – М.: АКВАРОС, 2008. – 39 с.

11. Методическое руководство по контролю процесса биологической очистки сточных вод: учеб.-метод. пособие для студентов специальности 1-57 01 03 «Биоэкология» / Р. М. Маркевич [и др.]. – Минск: БГТУ, 2009. – 161 с.

12. Активный ил: база данных [Информационный ресурс] / Регистрационное свидетельство № 1750900641 от 01.06.2009; Государственный регистр информационных ресурсов; обладатель инф. ресурса учреждение образования «Белорусский государственный технологический университет» / Е. А. Флюрик, Р. М. Маркевич, И. А. Гребенчикова, М. В. Рымовская, И. П. Дзюба. – Минск, 2009.

13. Шитиков, В. К. Количественная гидроэкология: методы системной идентификации / В. К. Шитиков, Г. С. Розенберг, Т. Д. Зинченко. – Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. – 463 с.

14. Кузнецов, И. Н. Комплексная микробиологическая переработка послеспиртовой барды с получением белоксодержащего кормового продукта: дис. ... канд. техн. наук: 03.01.06 / И. Н. Кузнецов. – Минск, 2012. – 116 с.

15. Сушкова, В. И. Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества / В. И. Сушкова, Г. И. Воробьева. – М.: ДеЛи принт, 2008. – 215 с.

16. Оболенская, А. В. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: учеб. пособие для вузов / А. В. Оболенская, З. П. Ельницкая, А. А. Леонович. – М.: Экология, 1991. – 320 с.

17. Горбатенко, И. В. Переработка отходов лигноцеллюлозных материалов в гумусосодержащее органоминеральное удобрение: дис. ... канд. техн. наук: 05.21.03 / И. В. Горбатенко. – Минск, 1997. – 149 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	3
1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД В УСЛОВИЯХ АЭРАЦИИ	4
1.1. Особенности биологической очистки сточных вод. Характеристика активного ила	4
1.2. Современные направления совершенствования биологической очистки сточных вод	7
1.3. Лабораторная работа. Очистка сточных вод в аэробных условиях.....	32
2. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ.....	43
2.1. Влияние условий анаэробной очистки сточных вод на выход и состав биогаза	43
2.2. Лабораторная работа. Очистка сточных вод в анаэробных условиях	55
3. СОСТАВ И СВОЙСТВА АКТИВНОГО ИЛА.....	65
3.1. Трофические взаимоотношения в биоценозе активного ила.....	66
3.2. Отклик биоценоза активного ила на внешнее воздействие	68
3.3. Уровень развития биоценоза и его деструкционный потенциал	69
3.4. Структура и свойства хлопков активного ила	73
3.5. Признаки ухудшения экологических условий функционирования активного ила.....	75
3.6. Использование системы сапробности для характеристики качества очистки сточных вод	76
3.7. Лабораторная работа. Гидробиологический анализ активного ила.....	83

4. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ	100
4.1. Сравнительная оценка направлений переработки послеспиртовой барды	100
4.2. Лабораторная работа. Обогащение послеспиртовой барды микробным белком	108
5. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ	113
5.1. Получение кормового белка на растительных отходах	113
5.2. Лабораторная работа. Обогащение белком целлюлозосодержащих отходов	127
6. БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ	135
6.1. Экологическая опасность синтетических полимеров	135
6.2. Получение биоразлагаемых полимеров	
6.3. Методы оценки биоразлагаемости полимеров	137
6.4. Лабораторная работа. Определение степени деструкции растительных отходов и полимерных материалов в условиях компостирования	139
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	149
ЛИТЕРАТУРА	150

Учебное издание

Маркевич Раиса Михайловна
Гребенчикова Ирина Александровна
Рымовская Мария Васильевна

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА
ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ**

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Учебно-методической пособие

Редактор *Е. И. Гоман*
Компьютерная верстка *А. А. Селиванова*
Дизайн обложки *П. П. Падалец*
Корректор *Е. И. Гоман*

Подписано в печать 22.05.2019. Формат 60×84¹/₁₆.
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать ризографическая.
Усл. печ. л. 8,9. Уч.-изд. л. 9,2.
Тираж 100 экз. Заказ .

Издатель и полиграфическое исполнение:
УО «Белорусский государственный технологический университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/227 от 20.03.2014.
Ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск.