

На правах рукописи



ХАБИБУЛЛИНА АИДА РАМИЛЕВНА

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДЕФОСФАТАЦИЯ СТОЧНЫХ ВОД
В УСЛОВИЯХ ЗОННОЙ АЭРАЦИИ АКТИВНОГО ИЛА**

1.5.6. Биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Казань – 2023

Работа выполнена на кафедре промышленной биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

Научный руководитель: доктор технических наук, профессор,
Сироткин Александр Семенович

Официальные оппоненты: **Ксенофонтов Борис Семенович**, доктор технических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», профессор кафедры экологии и промышленной безопасности;

Литти Юрий Владимирович, кандидат биологических наук, федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», заведующий лабораторией микробиологии антропогенных мест обитания Института микробиологии им. С.Н. Виноградского

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь

Защита диссертации состоится 27 декабря 2023 г. в 14:00 на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.028.02, созданного на базе ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследований технологический университет», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68, зал заседаний Ученого Совета (А-330)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследований технологический университет» и на сайте https://www.kstu.ru/event.jsp?id=148593&id_cat=141

Автореферат разослан « » ноября 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
99.2.028.02



Хабибрахманова
Венера Равилевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Повышение эффективности процессов биологической очистки сточных вод с глубоким удалением биогенных элементов, среди которых одним из важнейших является фосфор, остается актуальной задачей в области экологической биотехнологии.

Являясь одним из основных важнейших макроэлементов, фосфор необходим микроорганизмам для реализации конструктивного и энергетического обмена. Фосфор, поступающий в водоемы со сточными водами, в первую очередь, в виде ортофосфатов, интенсивно вовлекается в метаболизм цианобактерий, что приводит к нарушению процессов саморегуляции в биоценозах, накоплению в воде нейро-, гепатоксинов и токсичных продуктов разложения, снижению содержания растворенного кислорода в воде.

Одним из методов дефосфатации в процессах очистки сточных вод является биологическая трансформация фосфат-ионов с использованием микробных сообществ. Биологическое удаление фосфат-ионов из сточных вод осуществляется в процессе деятельности микроорганизмов активного ила или биопленки, в составе которых особую роль выполняют фосфатаккумулялирующие бактерии. Отличительные черты их метаболизма состоят в возможности трансформировать значительное количество фосфат-ионов с накоплением внутриклеточных полифосфатов в условиях последовательной смены условий культивирования с различным содержанием растворенного кислорода.

С учётом этого технологические схемы, направленные на повышение эффективности биологических процессов дефосфатации, основаны на чередовании режимов выключения и включения принудительной аэрации среды, благоприятно влияющем на процесс фосфатаккумуляции. Однако на этот процесс может влиять множество внешних факторов, в связи с чем организация успешной дефосфатации в масштабах очистных сооружений требует отдельного внимания, а учет этих факторов в процессе культивирования фосфатаккумулялирующих микроорганизмов в составе микробных сообществ является важнейшей научно-технической задачей.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время особый интерес представляют исследования, направленные на повышение эффективности биологической очистки сточных вод от биогенных элементов. Значительный вклад в исследования биологического потенциала активного ила, в том числе фосфатаккумулялирующих микроорганизмов, внесли российские и зарубежные ученые Харьковина О.В., Жмур Н.С., Яковлев С.В., Мешенгиссер Ю.М., Маркевич Р.М., Хенце М., Günther S., Janssen P., Fuhs G.W., Ekama G.A., Manga J., Wentzel M.C. и другие.

Представленная диссертация посвящена исследованию фосфатаккумулялирующих микроорганизмов активного ила и определению условий их культивирования в составе микробиоценоза с целью повышения эффективности дефосфатации сточных вод. Следует отметить, что разработкой

проектов модульных очистных сооружений для реализации технологии глубокого удаления биогенных элементов из сточных вод занимается значительное количество малых и крупных проектных и производственных компаний, в частности, АО «Институт МосводоканалНИИпроект» (г. Москва), НПК «Биотехинжиниринг» (г. Казань) и другие.

Цель работы состоит в определении значимых факторов культивирования фосфатаккумулялирующих микроорганизмов в составе микробного сообщества активного ила и повышении эффективности биологической дефосфатации в процессе аэробной очистки сточных вод путем последовательного чередования зон с различным содержанием кислорода.

Задачи работы:

1. Выделение изолятов фосфатаккумулялирующих микроорганизмов из активного ила, оценка их фосфатаккумулялирующей способности. Идентификация перспективных изолятов фосфатаккумулялирующих микроорганизмов активного ила.

2. Экспериментальные исследования процесса дефосфатации модельных растворов сточных вод в лабораторных условиях с использованием полученных изолятов фосфатаккумулялирующих микроорганизмов активного ила.

3. Комплексная оценка влияния внешних факторов среды на эффективность дефосфатации сточных вод на основании статистической обработки результатов теххимического анализа состава сточных и очищенных вод очистных сооружений.

4. Проведение опытно-промышленных испытаний по интенсификации процесса биологической дефосфатации сточных вод путем чередования зон с различным уровнем растворенного кислорода в узле биологической очистки очистных сооружений.

Новизна результатов диссертации заключается в следующем:

1. Получены новые экспериментальные данные о фосфатаккумулялирующей способности изолятов микробного сообщества активного ила очистных сооружений, обеспечивающей удаление до 45 % фосфат-ионов из сточных вод. Доказано участие в процессе биологической дефосфатации сточных вод бактериальной культуры *Pseudomonas atacamensis*.

2. По результатам статистического анализа многочисленных экспериментальных данных процесса биологической дефосфатации коммунально-бытовых сточных вод с эффективностью от 77 до 89 % в масштабе производственных очистных сооружений оценено влияние концентрации растворенного кислорода на микробную фосфатаккумуляцию в процессе удаления фосфатов из сточных вод.

3. Экспериментально оценено влияние зонной аэрации в процессе аэробной очистки сточных вод микроорганизмами активного ила на эффективность биологической дефосфатации, позволившей повысить степень удаления фосфат-ионов из сточных вод на 40-45 % по сравнению с условиями постоянной аэрации сточных вод.

Теоретическая и практическая значимость работы состоит в следующем:

Получена оценка фосфатаккумулялирующей способности изолятов активного ила, достигающей 98 %, на основании решения уравнений материального баланса процесса биологической дефосфатации сточных вод и определения значимости влияния факторов среды на процесс биологической дефосфатации сточных вод.

Разработано, испытано в опытно-промышленных условиях и внедрено техническое предложение по модернизации биотехнологии аэробной очистки сточных вод путем реализации принципа зонной аэрации в аэротенках очистных сооружений, что позволило увеличить эффективность биологической дефосфатации сточных вод, в среднем, на 40-45 % в сравнении с режимом постоянной аэрации. Получены акты работ, выполненных на производственных очистных сооружениях АО «Зеленодольск-Водоканалсервис» (г. Зеленодольск), а также ООО «НПК Биотехинжиниринг» по результатам проведения опытно-промышленных испытаний на очистных сооружениях БТИ-БОС с. Коцаково Пестречинского района Республики Татарстан с оценкой эффективности модернизации процесса биологической очистки сточных вод (Приложения А, Б).

Определено, что при реализации принципа зонной аэрации в аэротенках очистных сооружений БТИ-БОС с. Коцаково суммарная величина снижения затрат для очистки сточных вод объемом 400 м³/сутки может достигать около 1 млн. рублей в год за счет снижения затрат на закупку дефосфатирующих реагентов, потребляемую компрессорами электроэнергию, а также за счет предотвращенного экологического ущерба окружающей среде.

Методология и методы исследования. В работе использованы методы проведения технологических экспериментов в лабораторных и опытно-промышленных условиях с аналитическим контролем состава сточных вод с использованием титриметрических и колориметрических методов, расчета эффективности процесса дефосфатации сточных вод с учетом влияния факторов, определяющих протекание условия развития фосфатаккумулялирующих микроорганизмов, анализа состава и свойств изолятов микроорганизмов, полученных из микробного сообщества активного ила с использованием микробиологических методов, а также методов электронной микроскопии с элементным анализом и молекулярно-биологических методов, таких анализ последовательности 16S рРНК для идентификации фосфатаккумулялирующих микроорганизмов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Бактериальный изолят Р, выделенный из активного ила и идентифицированный как *Pseudomonas atacamensis*, обладает способностью к фосфатаккумуляции.

2. На основании результатов решения уравнений материального баланса процесса биологической дефосфатации сточных вод степень удаления фосфат-ионов в процессе фосфатаккумуляции составляет 98 %.

3. Степень удаления фосфат-ионов из модельной питательной среды накопительными культурами изолятов активного ила достигает 45 %.

4. Наиболее значимым внешним фактором, влияющим на эффективность дефосфатации сточных вод, является концентрация растворенного кислорода.

5. Организация последовательной смены зон с пониженным и повышенным содержанием растворенного кислорода в сооружениях биологической очистки способствует увеличению эффективности удаления фосфат-ионов из сточных вод за счет активации группы фосфатаккумулирующих микроорганизмов в составе активного ила, что обеспечивает повышение эффективности биологической дефосфатации сточных вод на 40-45 % в сравнении с режимом постоянной аэрации.

Достоверность результатов исследования обеспечивается воспроизводимостью результатов, использованием комплекса стандартизированных методик их аналитического контроля и анализа, а также современных методов и оборудования для проведения экспериментальных работ.

Публикации. Результаты, полученные в ходе данной работы, были опубликованы в 19 работах, из них 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для размещения материалов диссертаций, и 17 в других изданиях и сборниках научных трудов.

Апробация результатов диссертационного исследования. По итогам представления результатов, обсужденных в диссертации, автор диссертации является победителем конкурса научных работ Республиканской молодежной экологической научной конференции, (Казань, 2018 г.), международного конкурса научно-исследовательских работ «Актуальные проблемы науки и техники», (Казань, 2020 г.), конкурса на соискание премии Мэра г. Казани (Казань, 2022 г.).

Результаты диссертации представлены на Международной научно-практической конференции «Молодежь и наука XXI века» (Ульяновск, 2018 г.) VIII Международной научно-практической конференция «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 2020 г.), VII Пущинской конференции «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» (Москва, 2021 г.), конкурсе научных работ «Жить в XXI веке» (Казань, 2019, 2021 г.г.), Всероссийской научной интернет-конференции «Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии» (Уфа, 2020, 2022 г.г.), всероссийской научно-практической конференции «Современная биология и биотехнология: проблемы, тенденции, перспективы» (Волгоград, 2022 г.), XIII международной конференции ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2022» (Пермь, 2023 г.), XVII и XVIII всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии» (Казань, 2021, 2023 г.г.), XXXIII Зимней международной молодежной научная школе «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2021 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Проведенное исследование соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология (технические науки), а именно пункту 7: «Разработка новых технологических процессов на основе микробиологического синтеза, биотрансформации, биокатализа, иммуносорбции, биодеструкции, биоокисления и создание систем биокомпостирования различных отходов, очистки техногенных отходов (сточных вод, газовых выбросов и др.), создание замкнутых технологических схем микробиологического производства, последние с учетом вопросов по охране окружающей среды».

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 130 страницах, состоит из введения, 3 глав, основных выводов, списка литературы, включающего 132 наименований отечественных и зарубежных публикаций, содержит 39 рисунков, 24 таблицы, 2 приложения.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в обсуждении цели и задач диссертационного исследования, поиске и анализе литературных данных, выполнении экспериментальных работ, обработке и обсуждении результатов исследований, формировании выводов совместно с научным руководителем, написании публикаций по теме диссертации и участие в конференциях, конкурсах.

Автор выражает благодарность заведующему кафедрой промышленной биотехнологии, д.т.н. Сироткину Александру Семеновичу за научное руководство, постановку целей и задач исследования, консультирование и обсуждение научных результатов; доценту кафедры промышленной биотехнологии, к.т.н. Вдовиной Татьяне Владимировне за помощь в ходе проведения исследовательской работы и обсуждении её результатов; руководителю лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов, к.б.н. (PhD) Валидову Шамилю Завдатовичу за проведение процедуры идентификации бактериальных изолятов на основе анализа последовательности 16S рРНК на базе лаборатории Татарского НИИ сельского хозяйства ФИЦ КазНЦ РАН.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность выбранной темы исследований, сформулирована цель и задачи диссертационной работы, решение которых способствует ее достижению. Аргументирована научная новизна исследований, показана теоретическая и практическая значимость полученных результатов, представлены выносимые на защиту научные положения.

В первой главе проведен анализ литературы по теме исследования, описаны источники поступления фосфора в водную и почвенную экосистемы, основные методы удаления фосфат-ионов из сточных вод. Рассмотрены микробиологические и технологические особенности биологической дефосфатации сточных вод. Обоснована постановка цели и задач исследования.

Во второй главе описаны объекты исследования – изоляты фосфатаккумулялирующих микроорганизмов, выделенные из сообщества

активного ила очистных сооружений АО "Чистополь-Водоканал" г. Чистополь, Республика Татарстан; сточная вода, активный ил и результаты аналитического контроля производственной лаборатории очистных сооружений АО «Зеленодольск-Водоканалсервис» (ЗВКС), г. Зеленодольск, Республика Татарстан; сточная вода и активный ил биологических очистных сооружений «Биотехинжиниринг» (БТИ-БОС) с. Кошаково Пестречинского района, Республика Татарстан.

Описаны основные методы исследования. Выделение бактериальных изолятов из сообщества активного ила очистных сооружений проводилось высевом разведенной надильной жидкости по методу Коха на плотные питательные среды следующего состава (на 1 л): глюкоза – 10 г, NaNO_3 – 3 г, K_2HPO_4 – 1 г, KH_2PO_4 – 0,5 г, MgSO_4 – 0,5 г, KCl – 0,5 г, FeSO_4 – 0,001 г, дрожжевой экстракт – 0,5 г, агар-агар – 20 г. Инкубация культур осуществлялась в термостате при 37 ± 1 °C в течение 24-72 часов.

Исследование процесса фосфатаккумуляции осуществлялось по принятой методике с проведением периодического культивирования накопительных культур изолятов в жидкой модельной питательной среде следующего состава (на 1 л): пептон – 0,27 г, KH_2PO_4 – 0,028 г, NaCl – 0,007 г, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,004 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002 г, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,1 г, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,2 г, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,1 г, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,02 г, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,0026 г. Культивирование проводилось в качалочных колбах объемом 500 мл. Для организации аэрации использовались компрессор BARBUS SB-348A, воздушные фильтры Sartorius Midisart 2000 с размером пор 0,2 мкм, способные выдержать до 20 циклов автоклавирования, для обеспечения стерильности процесса. В ходе культивирования контролировались такие параметры как концентрация растворенного кислорода, фосфат-ионов в среде, наличие клеток с полифосфатными включениями (окраска по Леффлеру, электронная микроскопия с элементным анализом). Изоляты, проявившие фосфатаккумуляционную способность, были идентифицированы методом анализа нуклеотидной последовательности 16S рРНК.

В процессе мониторинга и проведения опытно-промышленных испытаний по интенсификации процесса биологической дефосфатации активным илом по стандартным методикам определялись такие параметры водных проб как концентрация фосфат-ионов, органических веществ по ХПК и БПК₅, ионов аммония, нитрит-, нитрат-ионов, растворенного кислорода, а также индексы биоразнообразия ила.

В третьей главе описаны уравнения процесса протекания микробной дефосфатации в условиях культивирования микроорганизмов без лимитирования процесса фосфатаккумуляции. Рассчитано, что теоретически в ходе процесса дефосфатации из среды может быть удалено 98 % фосфор-фосфатов; при этом 85 % от начальной концентрации фосфора фосфат-ионов может быть включено в состав внутриклеточных полифосфатных гранул.

Охарактеризованы бактериальные изоляты, полученные из активного ила очистных сооружений АО "Чистополь-Водоканал" г. Чистополь, Республика

Татарстан. Проведена оценка их фосфатаккумулирующей способности, на основании которой для исследований были отобраны два изолята – А и Р. Результаты, полученные при моделировании процесса фосфатаккумуляции с использованием изолятов А и Р, представлены на рисунке 1.

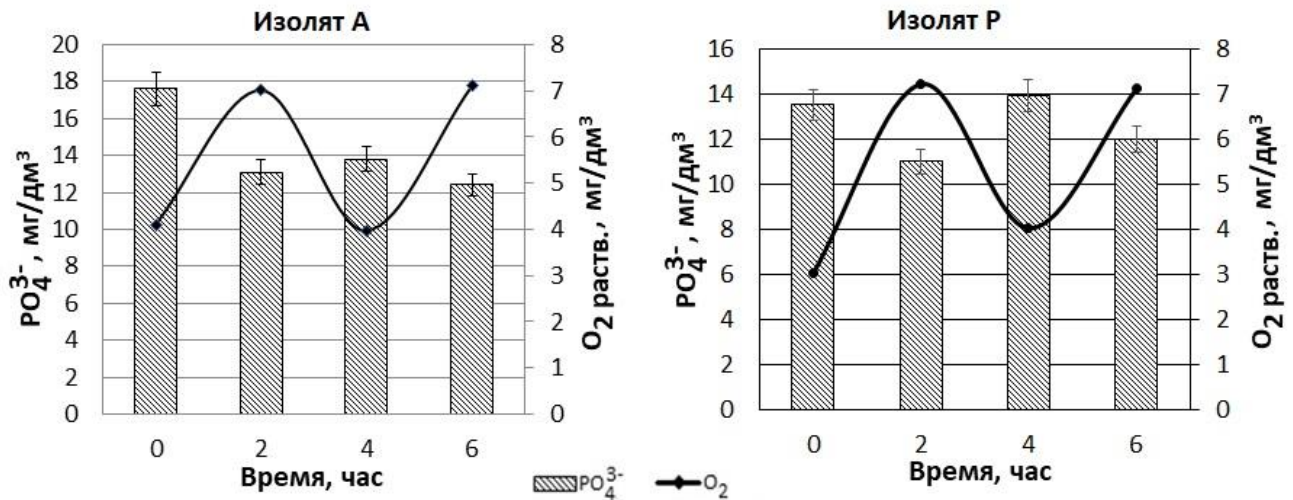


Рисунок 1 – Изменение концентраций фосфат-ионов и растворенного кислорода в процессе периодического культивирования бактерий в составе изолята А и Р

Согласно результатам, приведенным на рисунке 1, в процессе периодического культивирования и изменения концентрации растворенного кислорода в пределах 3-7 мг/дм³ общая эффективность удаления фосфат-ионов накопительной культурой изолята А составила 30 %, накопительной культурой изолята Р – 10 %. Для оценки потенциала изолятов в процессе биологического удаления фосфат-ионов был проведен расчет удельной фосфатаккумулирующей способности каждого рода, поскольку количество биомассы значительно варьировалось. Значение удельной фосфатаккумулирующей способности изолятов А и Р составило $1,1 \cdot 10^{-10}$ и $0,3 \cdot 10^{-10}$, мг/дм³ · КОЕ, соответственно.

В ходе экспериментальных исследований процессов дефосфатации модельной питательной среды была отмечена корреляция между количеством биомассы в инокулятах А, Р и эффективностью биологической дефосфатации. Эта зависимость имела экстремальный характер, что показано на рисунке 2.

Определено, что для числа клеток менее 3×10^7 КОЕ/см³ в составе инокулята процесс дефосфатации модельного раствора сточных вод с использованием фосфатаккумулирующих бактерий в составе изолятов А и Р не был отмечен. Оптимальная концентрация биомассы изолята А, позволяющая обеспечить максимальную фосфатаккумуляцию и эффективность дефосфатации модельного раствора, находится в диапазоне 8×10^9 - 1×10^{10} КОЕ/см³, а для изолята Р оптимальная концентрация лежит в пределах 6×10^7 - 1×10^9 КОЕ/см³.

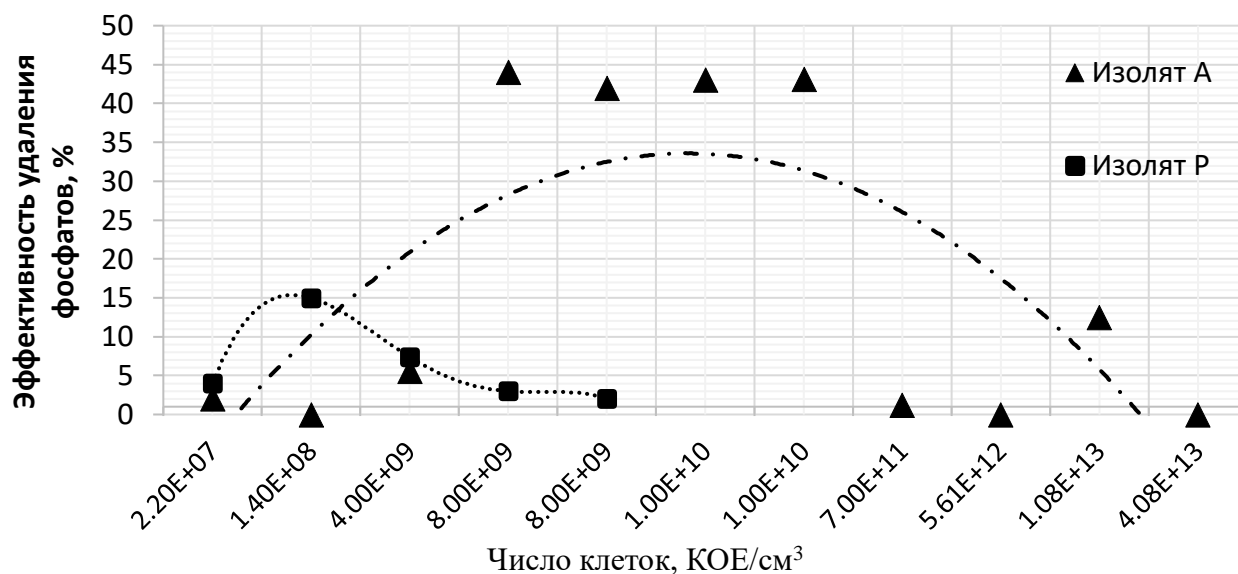


Рисунок 2 – Зависимость эффективности биологической дефосфатации от числа клеток в составе инокулята на основе изолятов А и Р

При этом значительное превышение оптимальной концентрации биомассы (более 4×10^{13} КОЕ/см³ для изолята А и более 1×10^{10} КОЕ/см³ для изолята Р) также снижает эффективность биологической дефосфатации, поскольку для запуска процесса фосфатаккумуляции необходим избыток углерода и фосфора.

Согласно результатам, приведенным на рис. 2, максимальная степень удаления фосфат-ионов при моделировании процесса фосфатаккумуляции с использованием изолята А составила 40-45 %, при использовании изолята Р – 10-15 %.

Несмотря на начальную высокую фосфатаккумуляционную способность, изолят А оказался нестабильным в процессе хранения и многократных пересевов в части сохранения фосфатаккумуляционных свойств, физиологической активности и жизнеспособности, в связи с чем дальнейшая работа проводилась с изолятом Р.

Результаты, полученные методом сканирующей электронной микроскопии с элементным анализом для изолята Р при периодическом культивировании (рис. 3), показывают изменение содержания элементного фосфора в биомассе изолята Р в процессе периодического культивирования в течение шести часов на модельной питательной среде. Содержание углерода в клетках бактерий изолята Р в начальный момент культивирования составляет около 62,4 масс.%, фосфора – около 0,3 масс.%. По окончании шестичасового культивирования массовая доля углерода составила около 83,0 масс.%, фосфора – 0,67 масс.%. Различное содержание углерода объясняется методикой проведения анализа, которая предполагает выделение отдельных областей в пробе для точечного определения элементного состава. В связи с этим для сопоставления содержания элементного фосфора в процессе периодического культивирования бактерий изолята Р массовая доля фосфора была отнесена к

массовой доле углерода (Р:С). Отношение фосфора к углероду в начальный момент культивирования составило 0,005, по истечению 6 часов – 0,008, что показывает накопление элементарного фосфора в биомассе изолята Р при создании условий чередования кислородных режимов.

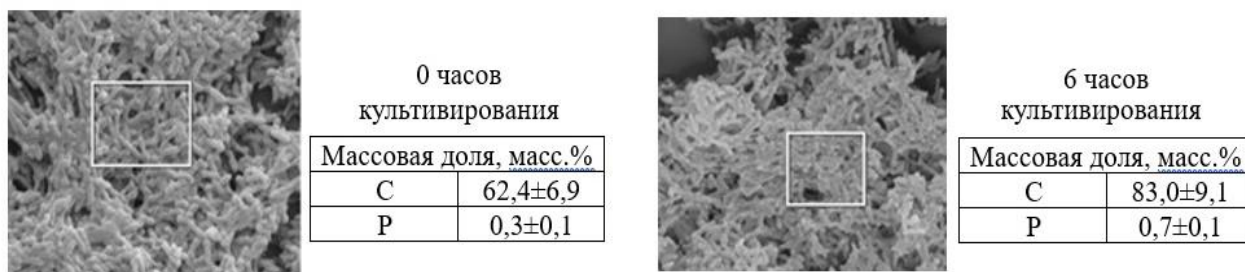


Рисунок 3 – Микрофотографии препаратов клеток изолята Р с элементарным анализом в выделенных областях

Содержание фосфора в ходе чередования условий с аэрацией/без аэрации возросло (рис.3), в среднем, на 38 %, что дает основание отнести бактерии выделенного изолята к группе фосфатаккумулялирующих микроорганизмов.

Проведена идентификация бактерий в составе изолята Р на основании секвенирования нуклеотидной последовательности 16S рибосомальной РНК бактерий. Была получена последовательность, состоящая из 1431 нуклеотидов, установившая 99,82 % соответствие полученного изолята с *Pseudomonas atacamensis*, зарегистрированных в базе GenBank под номером Y 58 (рис.4).

GenBank ▾

Pseudomonas atacamensis partial 16S rRNA gene, isolate Y58

GenBank: OA996519.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS OA996519 1414 bp DNA linear BCT 11-APR-2022

DEFINITION *Pseudomonas atacamensis* partial 16S rRNA gene, isolate Y58.

ACCESSION OA996519

VERSION OA996519.1

DBLINK BioProject: [PRJEB44322](#)

Рисунок 4 – Результаты идентификации бактерий в составе изолята Р на основании нуклеотидной последовательности 16S рРНК

На основании анализа результатов идентификации бактерий *Pseudomonas atacamensis* и их метаболизма с использованием базы данных KEGG (<https://www.genome.jp/kegg>) установлено сходство энергетического обмена с группой фосфатаккумулялирующих микроорганизмов и составлена схема предполагаемого пути энергетического обмена, приведенная на рисунке 5.

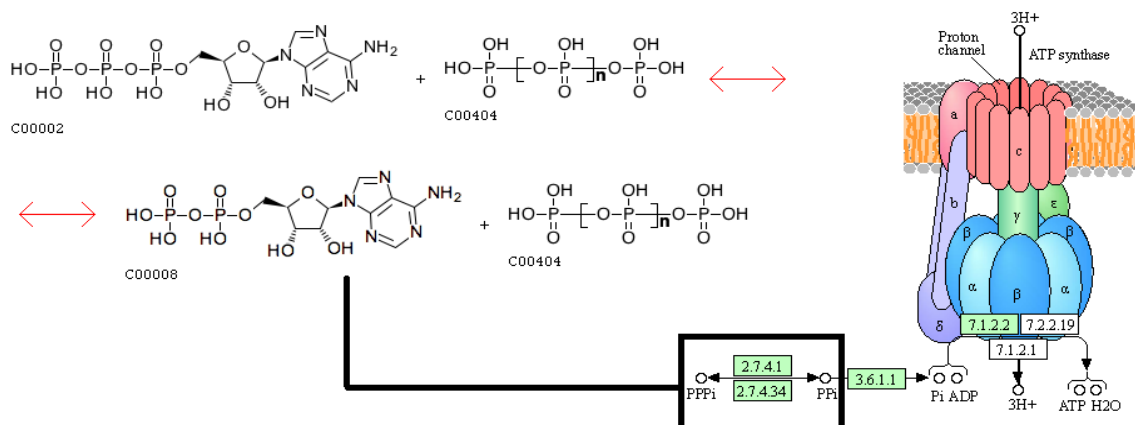


Рисунок 5 – Энергетический обмен бактерий *Pseudomonas atacamensis*

На основании полученных результатов аналитических исследований и с учетом схемы энергообмена, приведенной на рисунке 5, показано, что бактерии *Pseudomonas atacamensis* способны к накоплению энергии в виде полифосфатных гранул, которая в дальнейшем расходуется на потребление и трансформацию органического субстрата. Таким образом, следует сделать вывод, что изолят Р, преимущественно состоящий из бактерий *Pseudomonas atacamensis*, активно участвует в процессах фосфатаккумуляции в составе микробного сообщества активного ила.

Дальнейшие исследования были направлены на анализ факторов, определяющих эффективность дефосфатации сточных вод микробиоценозом активного ила очистных сооружений АО «Зеленодольск-Водоканалсервис» (ЗВКС), г. Зеленодольск, Республика Татарстан. В качестве факторов, влияющих на эффективность дефосфатации, были рассмотрены концентрации фосфат-ионов, органических веществ, коэффициент нитрификации (включает отношение ионов аммония, нитрит- и нитрат-ионов), температура, pH, концентрация растворенного кислорода, доза ила (табл. 1).

Таблица 1 – Коэффициенты корреляции параметров, влияющих на микробную фосфатаккумуляцию

Параметр	Минимальное значение	Максимальное значение	Коэффициент корреляции	t-критерий Стьюдента
Активная реакция среды, pH	7	7,7	-0,106	1,59
Концентрация растворенного кислорода, мг/дм ³	2,03	4,0	-0,268	5,71
Температура, °C	11	26	-0,027	0,33
Доза ила, мг/дм ³	1,5	4,0	-0,127	1,47
Концентрация органических веществ по БПК ₅ , мг/дм ³	152	985	0,112	2,24
Коэффициент нитрификации (K _N)	0,004	0,518	0,084	1,9

Поскольку особый интерес представляет процесс микробной аккумуляции фосфора, была проведена выборка значений из производственных данных, параметры которых удовлетворяют условиям протекания микробной фосфатаккумуляции (табл. 1).

Согласно результатам, приведенным в таблице 1, расчетные значения t -критерия для концентраций растворенного кислорода и органических веществ больше табличного значения (1,97), что позволяет принимать эти параметры во внимание при анализе фосфатаккумуляции в ходе мониторинга производственного процесса биологической очистки сточных вод. При этом наибольшее численное значение коэффициента корреляции (по модулю) соответствует концентрации растворенного кислорода, что говорит о большой степени влияния данного параметра для эффективности дефосфатации. Однако, низкие числовые значения коэффициентов корреляции каждого параметра по отдельности, обуславливают необходимость детальной обработки лабораторных данных с определением коэффициентов регрессии для каждого фактора.

После оценки значимости коэффициентов регрессии по критерию Стьюдента было получено регрессионное уравнение, в котором были учтены следующие факторы: концентрация растворенного кислорода; доза ила; концентрация органических веществ по БПК₅; коэффициент нитрификации. Уравнение регрессии (1) составлено по результатам мониторинга данных биологической очистки с учетом эффективности процесса дефосфатации в пределах 77-89 % и имеет вид:

$$\bar{Э} = 86,857 - 1,066 \cdot [O_2] + 0,822 \cdot [ДИ] - 0,398 \cdot [БПК_5] + 0,229 \cdot K_N, \quad (1)$$

Данное уравнение справедливо для изменения параметров в следующих диапазонах:

- концентрация растворенного кислорода от 2 до 4 мг/дм³;
- доза ила от 1,7 до 2,9 мг/дм³;
- концентрация органических веществ по БПК₅ от 172 до 411 мг/дм³;
- коэффициент нитрификации от 0,009 до 0,325.

Полученное уравнение было проверено по статистическим критериям для установления возможности его применения к описанию процесса биологической дефосфатации сточных вод.

Значения коэффициентов регрессии (урав. 1) позволяют определить степень и характер зависимости эффективности дефосфатации от каждого фактора с учетом многофакторности процесса. Так, коэффициент регрессии перед концентрацией растворенного кислорода указывает на обратно пропорциональную зависимость со значительной степенью влияния этого фактора. Это может быть связано с тем, что основная доля фосфат-ионов потребляется группой фосфатаккумулялирующих бактерий в силу особенностей их метаболизма, а запуск процесса аккумуляции фосфатов происходит только при первоначальном нахождении микроорганизмов в условиях пониженного содержания кислорода с дальнейшим их переводом в зону с интенсивной аэрацией, где отмечается интенсивное потребление фосфат-ионов.

На основании расчета коэффициентов зависимостей в качестве фактора с наибольшей степенью влияния на процесс биологической дефосфатации была выбрана концентрация растворенного кислорода.

Таким образом, основным подходом к модернизации модульных очистных сооружений в ходе дальнейших опытно-промышленных испытаний стало чередование условий с пониженным и повышенным уровнем растворенного кислорода в сооружениях биологической очистки.

Опытно-промышленные испытания были проведены на БТИ-БОС с. Кошаково, упрощенная схема которых приведена на рисунке 6.

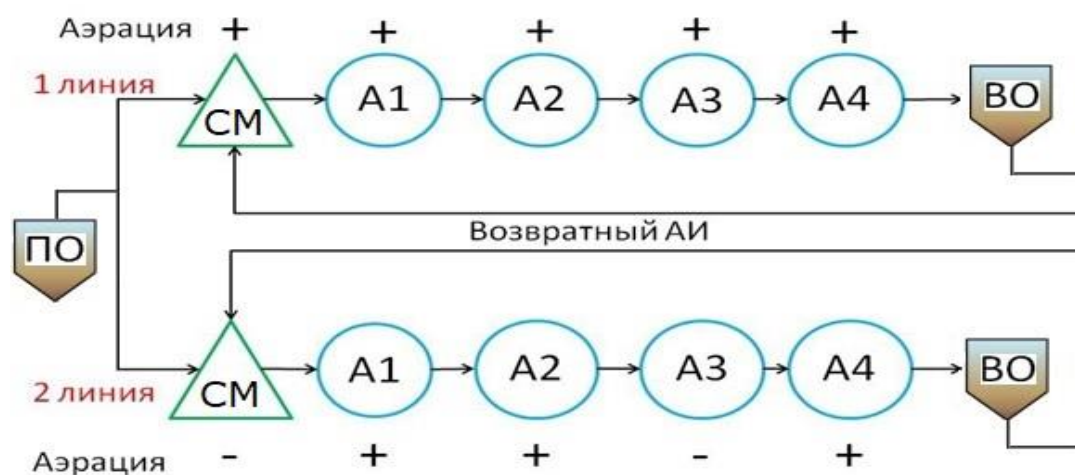


Рисунок 6 – Принципиальная технологическая схема узла биологической очистки БТИ-БОС с. Кошаково (ПО – первичный отстойник, СМ – смеситель с крупнопузырчатой аэрацией, А1-А4 – аэротенки, ВО – вторичный отстойник)

Технологическая схема узла биологической очистки (рис. 6) с активным илом представлена денитрификатором, аэротенками и вторичным отстойником. Перемешивание иловой смеси в отдельных сооружениях узла биологической очистки осуществлялось механически (-) или посредством принудительной аэрации (+), что позволило создать условия чередования режимов по содержанию растворенного кислорода.

Усредненный состав сточных вод за период опытно-промышленных испытаний приведен в таблице 2.

Таблица 2 – Усредненный состав сточных вод БТИ-БОС с. Кошаково

Показатель	Значение	Показатель	Значение
рН, ед.рН	7,4 ± 0,2	Ионы аммония, мг/дм ³	71 ± 14
ХПК, мг О ₂ /дм ³	1042 ± 156	Нитрит-ионы, мг/дм ³	< 0,02
БПК ₅ , мгО ₂ /дм ³	420 ± 50	Нитрат-ионы, мг/дм ³	2,0 ± 0,6
Фосфат-ионы, мг/дм ³	29,1 ± 3,5		

Активный ил данной очистной станции был охарактеризован как стабильно работающий на основании индексов биоразнообразия (табл. 3). При этом отмечено наличие залповых сбросов сточной воды, поскольку доминирующими в изучаемом активном иле являются нитчатые бактерии.

Таблица 3 – Значения индексов биоразнообразия активного ила БТИ-БОС с. Коцаково

Показатель	1 линия	2 линия
Индекс Шеннона (биоразнообразие)	3,51 (значительное)	3,17 (значительное)
Индекс Куба (распределение по родам)	26,51 (равномерное)	23,59 (равномерное)
Индекс Маргалефа (родовое богатство)	3,99 (значительное)	3,57 (значительное)
Доминирующие виды	Нитчатые микроорганизмы, <i>Vorticella microstoma</i> , <i>Arcella discoides</i>	Нитчатые микроорганизмы, <i>Vorticella microstoma</i> , <i>Arcella discoides</i>

В дальнейшем на базе БТИ-БОС с. Коцаково проводились опытно-промышленные испытания технического предложения, основанного на принципе зонной аэрации в процессе аэробной биоочистки сточных вод, сформулированного по результатам проведенных ранее лабораторных экспериментальных исследований с образцами активного ила из очистных сооружений АО «Чистополь-Водоканал» и АО «Зеленодольск-Водоканалсервис».

Обоснованность проверки полученных ранее результатов в рамках проведения опытно-промышленных испытаний на БТИ-БОС с. Коцаково являлось то, что основную долю поступающих сточных вод составляют коммунально-бытовые сточные воды; таким образом, их состав по источникам основных питательных субстратов (углерода, азота, фосфора) был аналогичным сточным водам сооружений, исследованных ранее. Кроме того, БТИ-БОС с. Коцаково комплектуются двумя идентичными параллельно работающими технологическими линиями, одна из которых выступала в качестве опытной, а другая – контрольной (рис.6).

В работе экспериментально исследована дефосфатирующая способность активного ила в условиях постоянной и зонной (с чередованием кислородных режимов) аэрации (рис. 7,8).

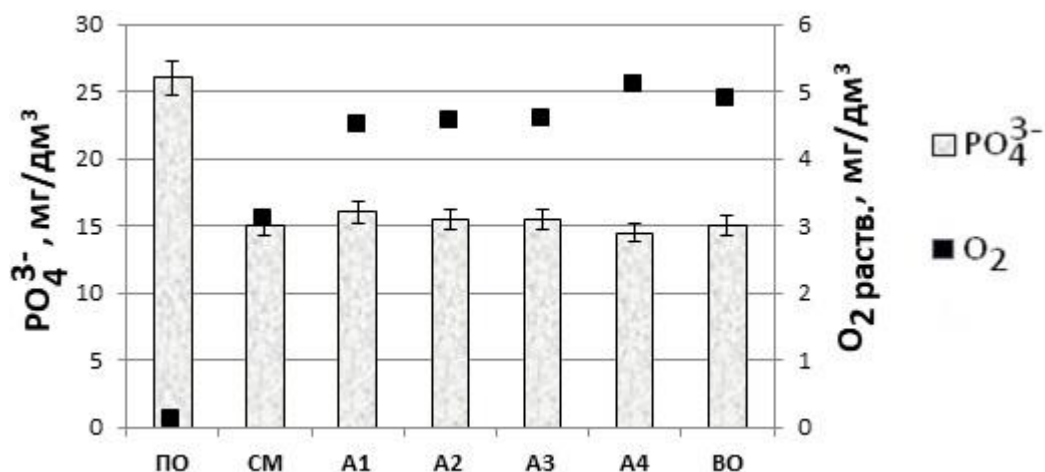


Рисунок 7 – Изменение концентрации фосфат-ионов в условиях постоянной аэрации (ПО – первичный отстойник, СМ – смеситель с крупнопузырчатой аэрацией, А1-А4 – четыре аэротенка, ВО – вторичный отстойник)

Результаты, представленные на рисунке 7, свидетельствуют о том, что в условиях постоянной аэрации и концентрации кислорода на уровне от 3 до 5 мг/дм³ происходит потребление фосфат-ионов и снижение их концентрации до 14 мг/дм³. Максимальная эффективность биологической дефосфатации в условиях постоянной аэрации за период наблюдения составила 48 %.

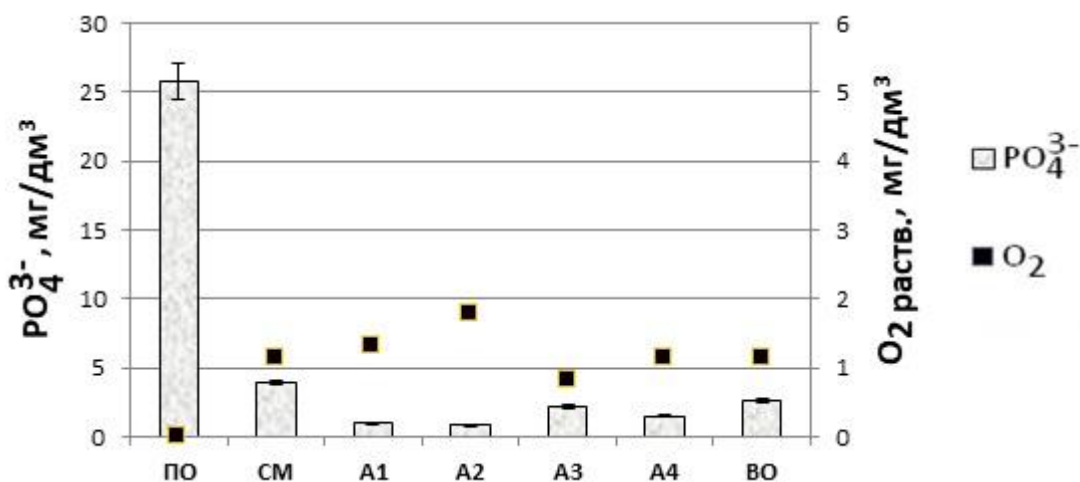


Рисунок 8 – Изменение концентрации фосфат-ионов в условиях чередования кислородных режимов (ПО – первичный отстойник, СМ – смеситель с крупнопузырчатой аэрацией, А1-А4 – четыре аэротенка, ВО – вторичный отстойник)

Данные, приведенные на рисунке 8, свидетельствуют о том, что при концентрации кислорода 1,1-1,8 мг/дм³ в смесителе и в первых двух аэротенках при поступлении сточной воды из первичного отстойника концентрация фосфат-ионов снижается на 96 %. Это может объясняться нахождением активного ила во вторичном отстойнике в условиях пониженного содержания кислорода, а затем его дальнейшей рециркуляцией в зону аэрации – в смеситель с крупнопузырчатой аэрацией, где при контакте возвратного ила со сточной водой происходит интенсивное потребление фосфат-ионов. Значительная

разница удаления фосфат-ионов в смесителе с крупнопузырчатой аэрацией в условиях постоянной и зонной аэрации обусловлена высокой активностью группы фосфатаккумулирующих микроорганизмов в результате длительного пребывания активного ила в условиях чередования кислородных режимов. Дальнейшее снижение концентрации кислорода до $0,8 \text{ мг/дм}^3$ приводит к высвобождению $1,3 \text{ мг/дм}^3$ фосфат-ионов в надилловую жидкость. При последующем увеличении содержания кислорода в среде до $1,1 \text{ мг/дм}^3$ происходит интенсивное потребление фосфат-ионов и снижение их концентрации до $2,6 \text{ мг/дм}^3$. В акте опытно-промышленных испытаний диссертационной работы отмечено, что максимальная эффективность биологической очистки в условиях чередования кислородных режимов составила 89 %.

Помимо удаления фосфат-ионов из сточных вод процесс очистки сточной воды в условиях постоянной и зонной аэрации был проанализирован по всем основным показателям: количество органических веществ по ХПК, ионов аммония, нитрит-, нитрат-ионов. Результаты мониторинга состава сточных вод приведены на рисунке 9.

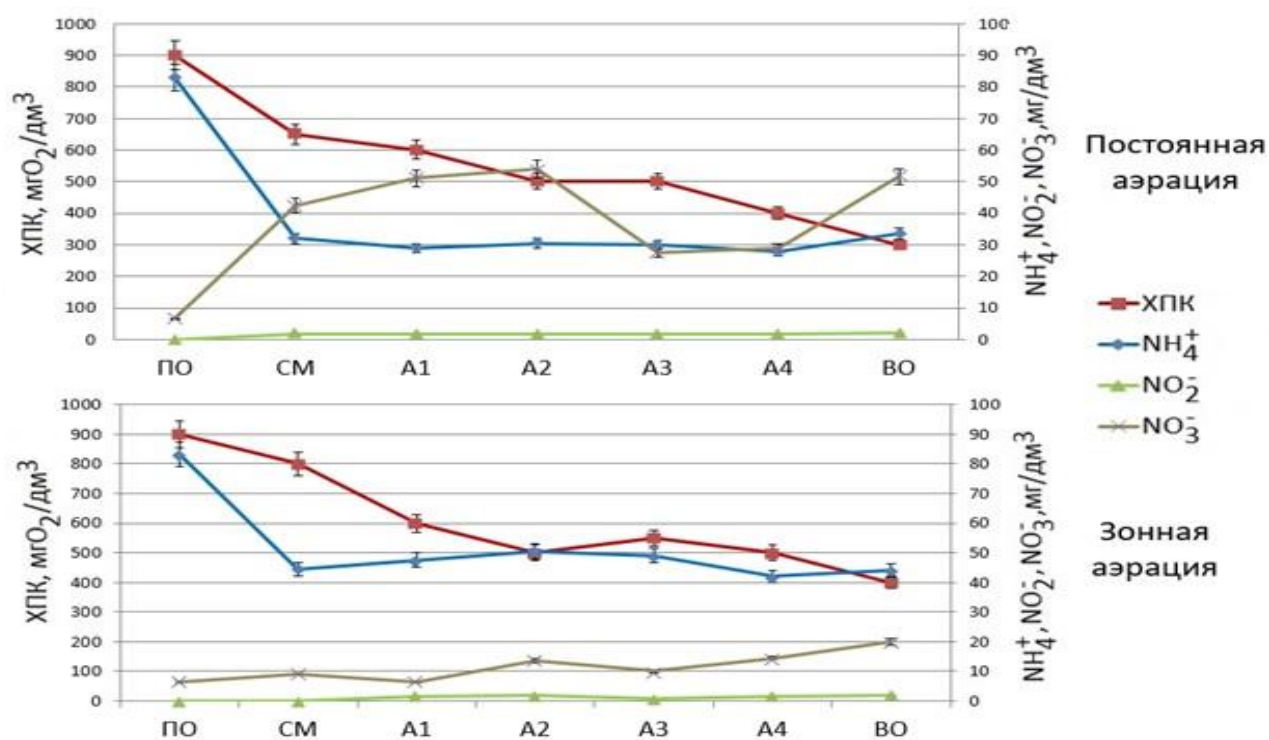


Рисунок 9 – Мониторинг состава сточных вод в ходе опытно-промышленных испытаний

Согласно данным, представленным на рисунке 7, на контрольной линии с постоянной аэрацией (при содержании кислорода от 3 до 5 мг/дм^3) степень удаления органических веществ и ионов аммония составила 67 % и 60 %, соответственно. На опытной линии с зонной аэрацией (при содержании кислорода на уровне $1-2 \text{ мг/дм}^3$) эффективности удаления органических веществ и ионов аммония – 56 % и 47 %, соответственно.

Снижение показателей очистки при понижении содержания кислорода на опытной линии закономерно, поскольку большинство микроорганизмов

активного ила представлены аэробными микроорганизмами. Однако снижение эффективности удаления органических веществ и ионов аммония в пределах допустимых значений позволяет сделать вывод о незначительном влиянии режима аэрации на работу очистной станции в целом.

Отдельного внимания требует нитрификация в связи с чувствительностью данного процесса к содержанию растворенного кислорода в среде. В условиях постоянной аэрации в очищенной воде накапливается значительное количество нитрат-ионов (около 53 мг/дм³) и небольшое количество нитрит-ионов (около 4 мг/дм³), что говорит об удовлетворительном протекании аэробной нитрификации. В условиях зонной аэрации в очищенной воде наблюдаются незначительные содержания нитрит- и нитрат-ионов: около 2 мг/дм³ и 20 мг/дм³, соответственно. Это может быть связано с развитием бактерий, осуществляющих анаэробное окисление ионов аммония, известное в литературе как анаммокс-процесс. В условиях пониженного содержания кислорода для анаэробных анаммокс-бактерии в толще иловых хлопьев могут возникать условия для развития и окисления аммонийного азота до молекулярного азота с использованием в качестве акцептора электронов кислорода, связанного в нитрит-ионах.

Было показано, что помимо снижения ущерба окружающей природной среде, предложенная модернизация несет экономическую выгоду за счет снижения затрат, связанных с использованием дефосфатирующих реагентов и потреблением электроэнергии для аэрации сточных вод (табл. 4).

Таблица 4 – Технико-экономические показатели производства

Показатели	Единица изм.	По проекту
1. Годовой объем сточных вод	м ³ /год	146000
2. Капитальные вложения	тыс. руб.	17341
3. Численность работающих:		
– всего,	чел.	4
– в том числе рабочих	чел.	3
4. Производительность труда:		
– одного работающего,	м ³ /чел.	48667
– одного рабочего	м ³ /чел.	36500
5. Среднегодовая заработная плата:		
– одного рабочего	тыс. руб.	291275
- одного работающего	тыс. руб.	371456
6. Цеховая себестоимость очистки 1 м ³ воды	руб.	19,9 – 1 линия 13,4 – 2 линия

Таким образом, суммарная величина снижения затрат для очистки сточных вод объемом 400 м³/сутки может достигать около 1 млн. рублей в год за счет снижения затрат на закупку дефосфатирующих реагентов и потребляемую компрессорами электроэнергию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Получены две накопительные культуры изолятов ФАО из активного ила, обладающих способностью к фосфатаккумуляции. Проведен элементный анализ внутриклеточных накоплений методом сканирующей электронной микроскопии, подтверждающий депонирование фосфора в ходе моделирования процесса биологической дефосфатации в количестве 38 % от начального содержания элемента в клетках. Проведена идентификация изолята Р на основе анализа последовательности 16S рРНК, по результатам которого культура в составе изолята отнесена к *Pseudomonas atacamensis* с соответствием 99,82 %.

2. В ходе моделирования процесса фосфатаккумуляции с использованием исследуемых изолятов, было установлено, что максимальная степень удаления фосфат-ионов из модельной среды составляет до 45 % и 15 % для изолятов А и Р, соответственно. При этом была определена удельная дефосфатирующая активность, которая составляет в среднем $1,1 \times 10^{-10}$, $0,3 \times 10^{-10}$ мг/дм³×КОЕ для изолятов А и Р, соответственно.

3. На основании результатов статистического анализа массива экспериментальных данных процесса биологической дефосфатации коммунально-бытовых сточных вод за 2020-2021 г.г. с эффективностью от 77 до 89 % в масштабе производственных очистных сооружений, оценено влияние факторов среды на эффективность дефосфатации сточных вод. Результаты корреляционного и регрессионного анализа показали значимое влияние концентрации растворенного кислорода на микробную фосфатаккумуляцию в процессе удаления фосфатов из сточных вод.

4. Опытные-промышленные испытания технического предложения по реализации принципа зонной аэрации, основанного на чередовании условий с пониженным и повышенным уровнем растворенного кислорода в аэротенках очистных сооружений БТИ-БОС с. Кощакково, продемонстрировали увеличение эффективности биологической дефосфатации сточных вод на 40-45 % по сравнению с режимом постоянной аэрации.

5. Отмечено, что изменение режима аэрации не оказало значительного негативного влияния на эффективность очистки сточных вод по таким показателям как концентрация органического вещества по ХПК, ионов аммония, нитрит-, нитрат-ионов. Помимо предотвращенного ущерба окружающей природной среде, предложенная модернизация отличается экономической эффективностью за счет снижения затрат, связанных с использованием дефосфатирующих реагентов и потреблением электроэнергии для аэрации сточных вод. Суммарная величина снижения затрат на очистных сооружениях БТИ-БОС с. Кощакково для очистки сточных вод объемом 400 м³/сутки может достигать около 1 млн. рублей в год.

Разработанные в диссертационной работе подходы к реализации режимов биологической очистки сточных вод, направленные на развитие фосфатаккумулялирующих групп микроорганизмов в составе микробного

сообщества активного ила, и сформулированные технические и технологические предложения по эффективной дефосфатации сточных вод представляют собой основу для интенсификации процессов биологического удаления фосфат-ионов из сточных вод и модернизации очистных сооружений предприятий ЖКХ и промышленных объектов.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

В изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России:

1. **Хабибуллина А.Р.**, Анализ влияния факторов среды на биологическую дефосфатацию сточных вод / А.Р. Хабибуллина, Л.М. Сибиева, Й.В. Кобелева, Е.В. Перушкина, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т.73. №1. – С. 129-134.

2. **Хабибуллина А.Р.**, Интенсификация процесса дефосфатации сточных вод с использованием зонной аэрации активного ила / А.Р. Хабибуллина, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т.75. №8. – С. 66-72.

Статьи в других изданиях и в сборниках научных трудов и материалов конференций:

3. **Хабибуллина А.Р.** Исследование процесса биологической дефосфатации модельных сред с использованием фосфатаккумуляирующих бактерий / А.Р. Хабибуллина, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Вестник технологического университета - 2017. – Т.20, №19. – С. 131- 133.

4. **Хабибуллина А.Р.** Исследование процесса дефосфатации сточных вод с использованием фосфатаккумуляирующих бактерий / А.Р. Хабибуллина, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин, Й.В. Кобелева // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2019. – Т. 15, № 2. – С. 28-32.

5. **Хабибуллина, А.Р.** Сравнительная характеристика фосфатаккумуляирующей способности бактерий активного ила / А.Р. Хабибуллина, Й.В. Кобелева // III Республиканская молодежная экологическая научная конференция. Казань, – 2018. – С. 109-117.

6. **Хабибуллина, А.Р.** Исследование процесса биологической дефосфатации сточных вод с использованием бактерий р. *Bacillus* / А.Р. Хабибуллина, А.А. Хасанова, Р.Ш. Бикулов, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Международная научная конференция «Молодежь и наука XXI века». Ульяновск, – 2018. – С. 73-76.

7. Хасанова, А.А. Оценка фосфатаккумуляирующей способности бактерий р. *Bacillus* / А.А. Хасанова, А.Р. Хабибуллина, Р.Ш. Бикулов, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Конкурс научных работ «Жить в XXI веке». Казань, – 2019. – С. 563-565

8. **Хабибуллина, А.Р.** Об интенсификации процессов биологической дефосфатации сточных вод / А.Р. Хабибуллина, А.А. Хасанова, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // VIII Международная научно-практической конференция «Биотехнология: наука и практика». Ялта, – 2020. – №3 (34). – С. 522-524.

9. **Хабибуллина, А.Р.** Биологическая фосфатаккумуляция в технологии очистки сточных вод / **А.Р. Хабибуллина**, Е.В. Перушкина, А.А. Хасанова, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // XIV Всероссийской научной интернет-конференция «Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии». г. Уфа, – 2020. – С. 127-128.

10. Хасанова, А.А. Аспекты биотрансформации фосфора в микробной дефосфатации сточных вод / А.А. Хасанова, **А.Р. Хабибуллина**, Т.В. Вдовина, Е.В. Перушкина, А.С. Сироткин // XXXIII Зимняя международная молодежная научная школа «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии». Москва, – 2021.– С. 177.

11. Хафизова И.С. Роль бактерий *Acinetobacter sp.* в дефосфатации / И.С. Хафизова, А.А. Хасанова, **А.Р. Хабибуллина**, Е.В. Перушкина, А.С. Сироткин // Конкурс научных работ «Жить в XXI веке». Казань, – 2021. – С. 395-398

12. Хасанова, А.А. Консорциум фосфатаккумулялирующих бактерий из активного ила биологических очистных сооружений / А.А. Хасанова, Е.В. Перушкина, **А.Р. Хабибуллина**, И.С. Хафизова, А.С. Сироткин // VII Пуштинская конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». Москва, – 2021. – С. 103-104.

13. Хасанова, А.А. Особенности выделения фосфатаккумулялирующих бактерий активного ила / А.А. Хасанова, Е.В. Перушкина, **А.Р. Хабибуллина**, И.С. Хафизова, А.С. Сироткин // XVII Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии». Казань, – 2021. – С. 502-510

14. Хафизова И.С. Моделирование процесса фосфатаккумуляции в технологии очистки сточных вод при различных температурных условиях / И.С. Хафизова, **А.Р. Хабибуллина**, Е.В. Перушкина, А.А. Хасанова, А.С. Сироткин // XVII Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии». Казань, – 2021. – С. 511-516

15. Хафизова И.С. Оценка дефосфатации сточных вод на станции биологической очистки в летний сезон / И.С. Хафизова, Е.В. Перушкина, Л.М. Сибиева, А.А. Хасанова, **А.Р. Хабибуллина**, А.С. Сироткин // Международная научная конференция «Химия и инженерная экология – XXI». Казань, – 2021. – С. 223-225.

16. Хафизова И.С. Моделирование биологической дефосфатации сточных вод / И.С. Хафизова, Е.В. Перушкина, А.А. Хасанова, **А.Р. Хабибуллина** // Всероссийская научно-практическая конференция «Современная биология и биотехнология: проблемы, тенденции, перспективы». Волгоград, – 2022. – С. 32-34.

17. Джо-Мадугу, А.С. Мониторинг работы биологических очистных сооружений по удалению фосфат-ионов / **А.Р. Хабибуллина**, Д.Е. Смирнов, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Всероссийская научная интернет-конференция

«Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии». Уфа, – 2022 г. – С. 77-78.

18. **Хабибуллина А.Р.** Оценка влияния факторов на эффективность удаления фосфатов активным илом / **А.Р. Хабибуллина**, Ф.В. Лядов, М.М. Самойленко, А.С. Джо-Мадугу, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // XIII Международная конференция ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2022». Пермь, – 2023. – С. 877-879.

19. **Хабибуллина А.Р.** Интенсификация процесса биологической дефосфатации сточных вод / **А.Р. Хабибуллина**, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // XVIII Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии». Казань, – 2023. – С. 497-501.