

М.В. Михайловская

**АНАММОКС – КАК МЕТОД УДАЛЕНИЯ
СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА ИЗ СТОЧНЫХ ВОД И
ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В УКРАИНЕ**

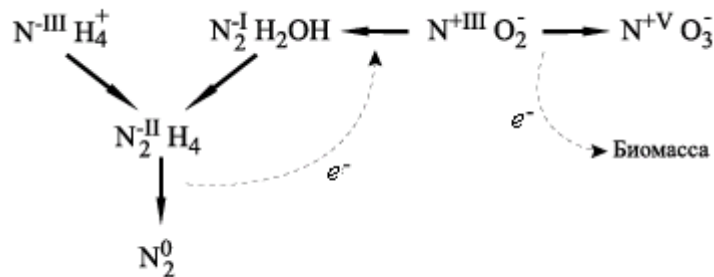
Проведен краткий обзор исследования метода анаммокс – анаэробного аммиакоокисления; описана суть химических преобразований этого метода и приведены некоторые виды микроорганизмов, которые принимают участие в превращении аммиака; проанализированы основные известные технологические параметры работы нетрадиционных методов удаления аммиака из сточных вод; сконструирована пилотная установка и проведены эксперименты по апробации метода анаммокс для обезвреживания жидких токсических отходов коксохимического предприятия.

Важным аспектом очистки промышленных, коммунальных и бытовых сточных вод является освобождение их от органических и неорганических соединений азота.

С микробиологической точки зрения, круговорот соединений азота состоит из пяти метаболических реакций (нитритация, нитратация, денитрификация, диссимиляционное окисление нитрата и анаэробное окисление аммиака); трех анаболических реакций (поглощение аммиака, ассимиляционное окисление нитрата и фиксация азота) и аммонификации [1].

Все составляющие, за исключением реакций анаммокс, были известны давно.

Классическое удаление соединений азота из сточных вод основывается на двух метаболических реакциях – нитри- и денитрификации. Благодаря уникальным исследованиям выдающегося микробиолога С.Н. Виноградского [2 – 4] эти реакции до сих пор используются в большинстве современных биологических очистных сооружений. Однако недавно в иле биореактора очистных сооружений г. Дельфта (Голландия) был замечен новый процесс микробиологического удаления азотсодержащих соединений из сточных вод [5]. Этот новейший процесс анаэробного окисления аммиака получил название анаммокс и описан в виде



Анаммокс означает окисление аммиака до N_2 с помощью нитрита или нитрата в качестве акцептора электронов в анаэробных условиях [6,7]. Опыты с меченым ^{15}N показали, что один атом азота образованного N_2 происходит от нитрита, а другой – от аммиака. Интермедиантами анаммокс были определены гидросиламин (NH_2OH) и гидразин (N_2H_4) [6].

В настоящее время метод анаммокс применяют и на некоторых других очистных сооружениях [8 – 11].

Наличие бактерий, ответственных за анаммокс-реакции, было предугадано уже давно на основании термодинамических расчетов и эволюционных представлений [12]. Последующие опыты показали, что анаммокс реализуется с помощью автотрофных бактерий семейства *Planctomycetales* [13]. Считается, что к ним принадлежат два пресноводных вида – *Candidatus Brocardia anammoxidans* [14] и *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* [15] и три морских вида – *Candidatus Scalindua sorokinii* [16], *Candidatus Scalindua brodae* и *Candidatus Scalindua wagneri* [17]. Кроме того, были описаны также миксотрофные анаммокс-актерии – *Candidatus Anammox globus* [18].

Все эти микроорганизмы имеют структурно-цитологическую особенность – внутри клеток существуют богатые белком участки с наиболее низким содержанием рибосом, чем в соседних компартментах [19]. Так же постулируется, что эти организмы способны окислять нитрит до нитрата и генерировать энергию для фиксации CO_2 [6]. *Candidatus Brocardia anammoxidans* растут очень медленно; считается, что время их удвоения составляет 31 сут [20]. Для анаммокс-организмов характерна также стратификация по своей микросреде обитания, которая предопределена оптимальными температурой и концентрацией кислорода, а также окислительно-восстановительными показателями, продолжительностью пребывания, наличием определенной концентрации аммиака, нитрата или нитрита, защитой от хищников. Схема распределения микроорганизмов приведена на рис. 1.

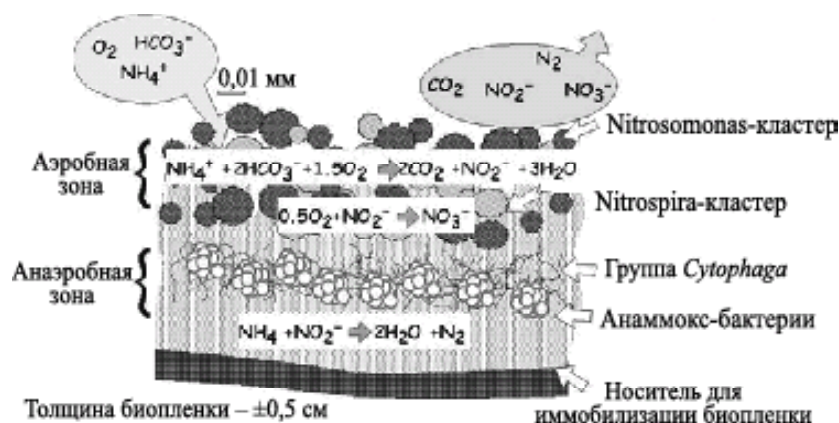


Рис. 1. Структура биопленки, участвующая при анаэробном окислении аммиака [6]

Стратификация хорошо коррелирует с химическими превращениями азота в биопленке, образованной на капроновом волокнистом носителе, который предназначен для иммобилизации микроорганизмов, или трансформациями, происходящими в гранулированном иле. Большое количество анаэробных и аэробных автотрофных бактерий, окисляющих аммиак, в биопленке создают условия как для продуцирования нитрата, так и для окисления аммиака.

Аммиак ($> 50 \text{ мг/дм}^3$) при поступлении со сточными водами не успевает полностью окисляться аэробными бактериями (*Nitrospira*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*), находящимися в верхнем слое биопленки, до нитрита или нитрата и проникает глубже, ближе к самому волокну. Здесь в анаэробных/аноксидных условиях живут и размножаются анаммокс-бактерии, которые потребляют нитрит/нитрат и аммиак и используют эти вещества для наращивания собственной биомассы, при этом они выделяют N_2 . Следовательно, в биопленке толщиной 0,5 мм могут эффективно, даже симбиотично, уживаться субстрат-конкурентные виды бактерий [18].

Преимуществами метода анаммокс перед традиционным комбинированием нитрификации и денитрификации во время очистки сточных вод являются:

- пониженная потребность в кислороде;
- отсутствие необходимости внесения внешних источников углерода, например метанола, поскольку процесс автотрофный;
- предотвращение образования избыточного количества ила;
- экономия на источниках энергии (рис. 2).

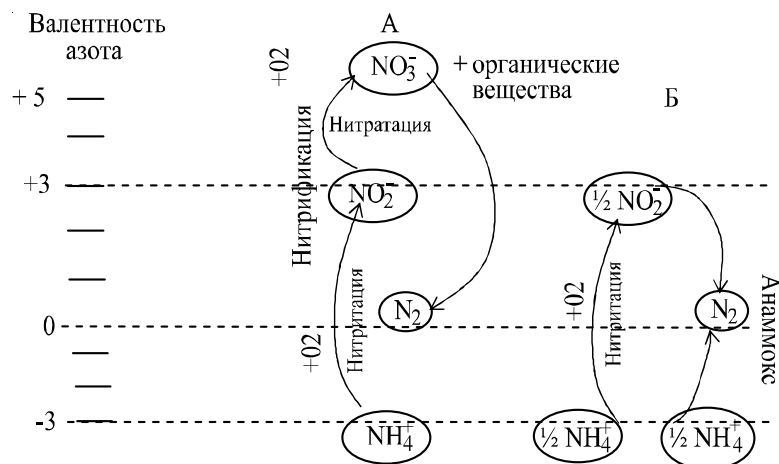


Рис. 2. Сравнительная схема традиционной технологии микробного удаления азота и анаэробного окисления аммиака [21]

Однако применение этого метода может сдерживаться из-за длительного времени, требующегося для нарастания биомассы анаммокс-бактерий. Для понимания его важности в естественных и искусственно созданных системах необходимо было изучить и идентифицировать анаммокс-бактерии в чистой культуре. Однако выделение этих бактерий является очень сложной и пока непреодолимой задачей. Медленная скорость размножения указанных бактерий и недостаточные знания относительно оптимального уровня нитритов, аммиака, нагрузки по органическому углероду, количества кислорода и режимов pH приводят к тому, что наращивание достаточной для конкретных сточных вод биомассы занимает много времени (от 100 сут до нескольких лет).

Базовые физиологические данные относительно метода анаммокс наиболее детально исследованы на очистных сооружениях г. Дельфта [20]. Оказалось, что оптимальными условиями для развития анаммокс-бактерий является температура 30 – 40°C, pH 7 – 8, количество растворенного в воде кислорода 0,25 – 1,3 мг/дм³. При этом в сточных водах непременно должен присутствовать фосфор при концентрации 15 – 20 мг/дм³. Избыточное количество фосфатов может ингибировать деятельность микроорганизмов. Показано, что использование гранулированного или закрепленного на носителях активного ила более эффективно, чем свободноплавающего. Это объясняется тем, что анаммокс-организмы склонны формировать стабильные и достаточно большие кластеры, включающие до 350 клеток [19]. Поэтому особое внимание было уделено способам иммобилизации этих микроорганизмов.

Цель данной работы – анализ работ иностранных ученых по внедрению новейших микробиологических способов удаления соединений азота

из сточных вод и изучение возможности применения таких способов в отечественных условиях. Рассмотрев основные работы за последние 10 лет [3 –10], нами сделана попытка смоделировать условия, необходимые для испытания метода анаммокс.

Методика эксперимента. На базе ООО "Энвитек" сконструирована пилотная установка по биологической очистке, в которую помещен микробиологический материал и жидкие токсические отходы. Установка состояла из трех циркуляционных колонн диаметром 1 дм и высотой 1,5 м, емкости для воды и погружных насосов (рис.3). Производительность одного насоса составляла 10 дм³/ч. Колонны отличались тем, что две из них были анаэробными (концентрация растворенного O₂ ≤ 1 мг/ дм³), а третья – аноксидная (концентрация растворенного O₂ ≥ 1 мг/ дм³). Цель такого разделения колонн – определить, какие условия более благоприятны для анаэробного окисления аммиака.

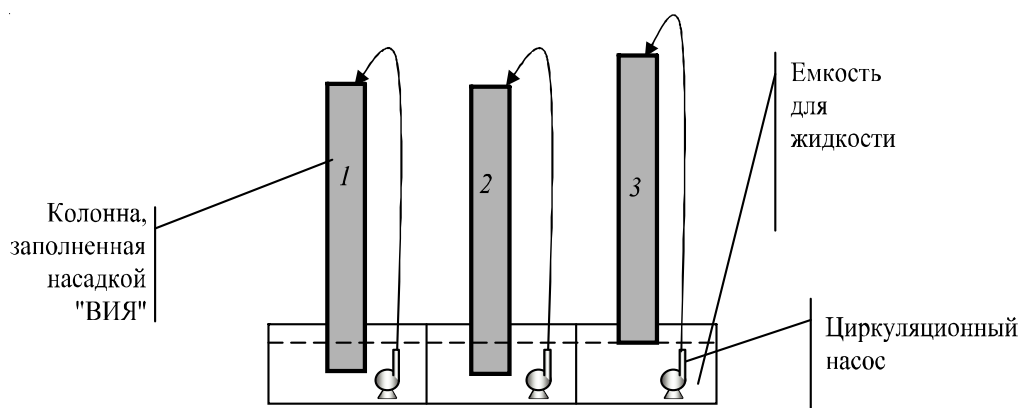


Рис.3. Схема пилотной установки по биологическому удалению аммиака: 1, 2 – анаэробные колонны, 3 – аноксидная колонна

Жидкие токсические отходы коксохимического производства были выбраны в качестве очищаемой жидкости. Она характеризовалась значением pH 6 – 7, средними концентрациями NH₄⁺ – 500, ХПК – 2600, NO₂⁻ – 4, NO₃⁻ – 410, Fe²⁺ – 25, SO₄²⁻ – 35 мг/ дм³. Соотношение нитратов/аммиака (0,8) было близким к оптимальному (1,2 – 1,5) [22]. Поскольку в [5, 7, 11, 15] отмечено, что наиболее благоприятным для развития и размножения анаммокс-бактерий является значение pH 7 – 8, в жидкость дозировали известковое молоко. Кроме того, в качестве источника фосфора, который, по данным химических анализов, сначала отсутствовал, но являлся важным питательным элементом для развития бактерий, в сточные воды добавляли ортофосфорную кислоту из расчета 15 – 20 PO₄³⁻ мг/ дм³. Особенностью заводского ила было то, что в течение трех месяцев в его

аэротенках находился капроновый волокнистый носитель "ВИЯ", предназначенный для иммобилизации микроорганизмов [22].

При внесении носителя "ВИЯ" с иммобилизованными на нем микроорганизмами из производства в пилотную установку биомасса, адаптированная к химическому составу коксохимических стоков, должна была обрасти пустые носители, ускоряя, таким образом, эффективность работы пилотной установки. Температуру в установке поддерживали термостатированием при 28 – 30°C.

Результаты и их обсуждение. На рис. 4 и 5 приведены данные двухмесячного функционирования установки.

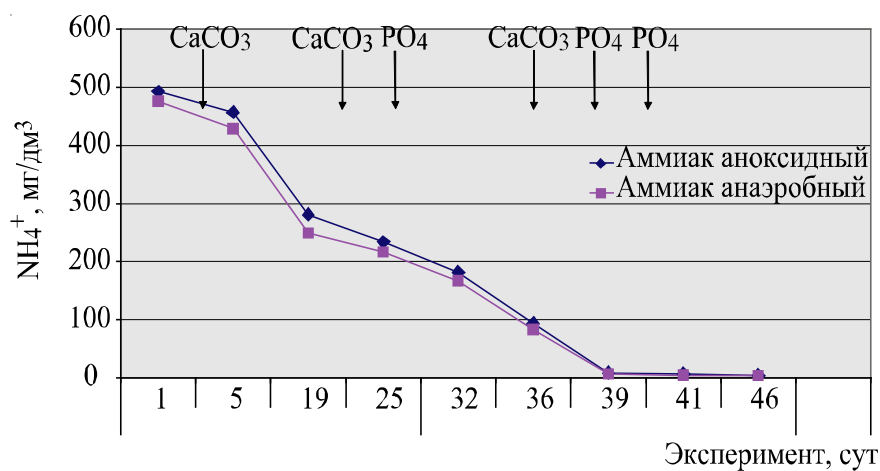


Рис. 4. Динамика снижения концентрации аммиака в пилотной установке

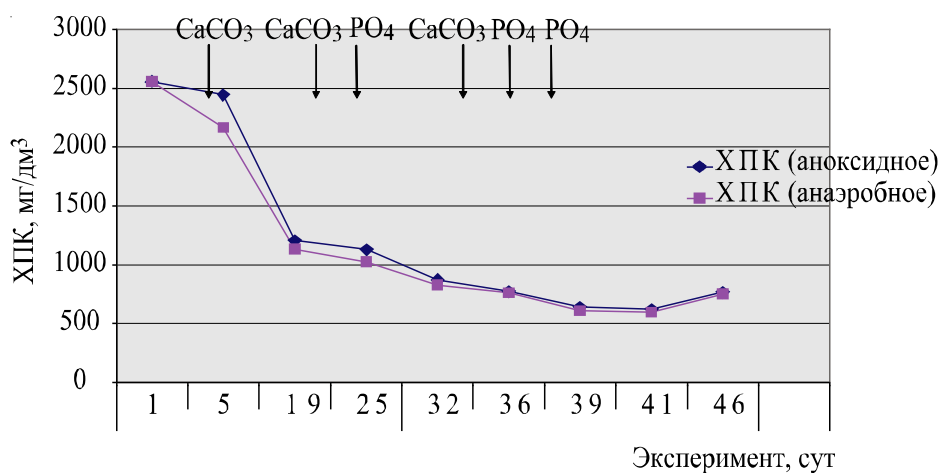


Рис. 5. Динамика уменьшения ХПК в пилотной установке

В подобных опытах авторами [5, 7, 11, 15] был использован активный ил, закрепленный на разнообразных пластиковых кольцах, шариках, или гранулированный ил. В нашем случае применен носитель "ВИЯ" из супертонкого химического волокна, которое обросло биопленкой толщиной 0,2–0,5 мм, где, вероятно, были созданы послойные аэробно-анаэробные условия. Данные микроскопии представлены на рис.6.

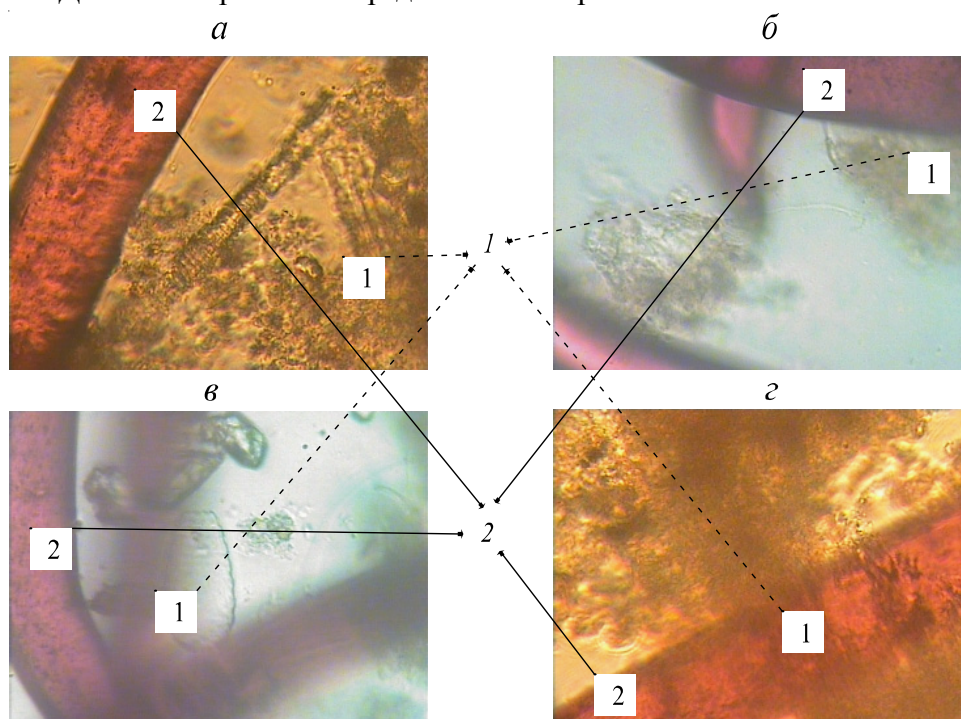


Рис. 6. Микроорганизмы (1), иммобилизованные на носителе "ВИЯ"(2) (а – б – сточные воды Бортнической станции аэрации, в – г – жидкие токсические отходы коксохимического предприятия "Азовсталь"). Увеличение $\times 40$

Установлено (см. рис. 4 и 5), что скорость и периоды уменьшения количества аммиака и ХПК коррелируют между собой. За период функционирования пилотной установки (46 сут) концентрация аммиака снизилась с 493 до 4,35 мг/дм³ в аноксидной колонне и до 3,81 мг/дм³ – в анаэробных колоннах, а ХПК – соответственно с 2560 до 621 и до 523 мг/дм³. Кроме того, динамика снижения концентрации загрязняющих веществ в анаэробных колоннах (на рис. 4, 5 приведено усредненное значение по обеим анаэробным колоннам) была чуть больше, чем в аноксидной колонне. На 32 сут после запуска пилотной установки вода стала бурого цвета, что является характерным признаком активного функционирования анаммокс-бактерий [16].

Через 40 сут функціонування установки цвет воды стал светложелтым. Исчез также специфический запах жидких токсических отходов коксохимического завода.

Выводы. Таким образом, изучены литературные данные иностранных исследователей в области новейших микробиологических способов удаления соединений азота из сточных вод, проанализированы основные технологические параметры работы установок, сконструирована и запущена собственная пилотная установка, которая имела следующие параметры работы: степень снижения концентрации аммиака – 99%; степень снижения ХПК – 80%.

Подобранные технологические условия (исходный состав воды, бескислородные условия разложения аммиака, температура на уровне 28 – 30 °С, рН 7 – 8, иммобилизация микроорганизмов на носителях "ВИЯ" из супертонкого химического волокна с образованием биопленки) дают возможность утверждать, что освобождение жидких токсических отходов коксохимического производства от аммиака в лабораторных условиях происходило по механизму анаммокс.

Резюме. Зроблено короткий огляд історії відкриття методу анаммокс; описано суть хімічних перетворень та наведено основні види мікроорганізмів, які беруть участь у перетворенні аміаку; проаналізовано основні відомі технологічні параметри нетрадиційних методів видалення аміаку із стічних вод; сконструйовано пилотну установку та проведено експерименти із застосуванням методу анаммокс для знешкодження рідких токсичних відходів коксохімічного виробництва.

M. V. Mykhailovska

ANAMMOX AS MEANS OF AMMONIA COMPOUNDS REMOVAL AND PROSPECTS OF ITS APPLICATION IN UKRAINE

Summary

There is a brief description of anammox process discovery given in the article; essence of biochemical transformations and main species of microorganisms involved in the process of ammonia dissociation are described; the main technological parameters of non-conventional methods of ammonia removal from wastewater are analyzed; pilot plant was installed and experiments concerning anammox process application for treatment of coke-chemical industry liquid toxic wastes were conducted.

1. *Brock T.D., Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J.* // Biology of microorganisms. – New York: 8th Edn. Upper Saddle River NJ., 1997. – 322 p.

2. *Winogradsky S.N.* // Ann.Inst. Pasteur. – 1890. – N4. – P.36 – 57.
3. *Khuyver A.J, Donker H.J.K.* // Chem Zelle u Gewebe. – 1926. – **13**. – P.134– 190.
4. *Beijerinck M.W., Minkman D.C.J.* // Zentralbl Bakteriol Parasitenk, Abt. – 1910. – **2**, N25. – P. 30 – 63.
5. *Mulder A, van de Graaf A.A, Robertson L.A, Kuenen J.G.* // FEMS Microbiol. Ecol. – 1995. – **16**. – P.177 – 184.
6. *Van de Graaf A.A., de Bruijn P., Roberston L.A., Jetten M.S.M., Kuenen J.G.* // Microbiology. – 1996. – **142**. – P.2187 – 2196.
7. *Strous M., van Gerven E., Kuenen J.G., Jetten M.S.M.* // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – **63**. – P. 2446 – 2448.
8. *Egli K., Fanger U., Alvarez P.J.J., Siegrist H., van der Meer J.R., Zehnder A.J.B.* // Arch. Microbiol. – 2001. – **175**. – P.198 – 207.
9. *Fux C., Boehler M., Huber P., Brunner I., Siegrust H.* // Biotechnol. – 2001. – **99**. – P.295 – 306.
10. *Van Dongen U., Letten M.S.M., van Loosdrecht M.C.M.* // Water Sci. and Technol. – 2001. – **44**, N1. – P.153 – 160.
11. *Van der Star W. R.L., Abma R.W., Blommers D., Mulder J.W., Tokutomi T., Strous M., Picioreanu C., van Loosdrecht M.C.M.* // Water Res. – 2007. – N 41. – P. 4149 – 4163
12. *Broda E.* // Z. Allg. Mikrobiol. – 1977. – **17**. – S. 491 – 493.
13. *Fuerst J.A.* // Microbiology. – 1995. – **141**. – P.1493 – 1506.
14. *Strous M., Fuerst J.A., Kramer E.H.M., Logemann S., Muyzer G., van de Pas-Schoonen K.T., Webb R., Kuenen J.G., Jetten M.S.M.* // Nature. – 1999. – **400**. – P. 446 – 449.
15. *Kuypers M.M.M., Sliemers A.O., Lavik G., Schmid M., Jurgensen B.B., Kuenen J.G., Sinninghe Damster J.S., Strous M., Jetten M.S.M.* // Nature. – 2003. – **422**. – P.608 – 611.
16. *Schmid M., Walsh K., Webb R. et al.* // Syst. Appl. Microbiol. – 2003. – **26**. – P.529 – 538.
17. *Kartal B., Rattray J., van Niftrik L.A., van de Vossenberg J., Schmid M.C., Webb R.I., Schouten S., Fuerst J.A., Damste J.S., Jetten M.S.M., Strous M.* // Ibid. – 2006. – **30**. – P.39 – 49.
18. *Egli K.R.* //Dissertation, Swiss Federal Institute of Technonlogy. – Zurich, 2003. – 116 p.
19. *Jetten M.S.M., Strous M., van de Pas-Schoonen K.T., Schalk J., van Dongen U.G.J.M., van de Graaf A.A, Logemann S., Muyzer G., van Loosdrecht M.C.M., Kuenen J.G.* // FEMS Microbiol. – 1999. – **22**. – P.421 – 437.
20. *Гвоздяк П.І., Михайловська М.В.* // Тр. НПК "Сучасні пробл. охорони довкілля, рац. використання водних ресурсів та очистки природ. і стічних вод" (Миргород, квітень 2007). – Миргород, 2007. – С. 28 – 31.
21. *Gut L., Plaza E., Diuگوіckca M., Hultman B.* // Vatten. – 2005. – **61**, N 3. – P.175 – 182.
22. *А.с. 1566675 СССР, МКИ 5CO2F3/30/ П.І. Гвоздяк, Н.Ф.Могилевич, О.Д. Денис.* – Опубл. 30.11.92, Бюл. № 21.

Нац. техн. ун-т України
 "Київ. політехн. ін-т",
 г. Київ

Поступила 01.11.2007