

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ СТОЧНЫХ ВОД ПРОИЗВОДСТВА СПИЧЕК НА ХЛОРАТВОССТАНАВЛИВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ *AEROCOCCUS DECHLORATICANS* ТГС-463

*Предложена математическая модель, адекватно описывающая процесс восстановления хлоратов культурой *Aerococcus dechloraticans* ТГС-463 при наличии в среде компонентов, входящих в состав сточных вод производства зажигательных смесей. Показано, что наиболее отрицательное влияние на скорость утилизации хлоратов (по степени убывания) оказывают хроматы, трехвалентное железо, цинк. Фосфаты не влияют на хлоратредукцию.*

Ключевые слова: биологическая очистка сточных вод, *Aerococcus dechloraticans* ТГС-463, хлораты, хлоратредукция.

Сточные воды производства спичек образуются в результате технологических операций по приготовлению фосфорной и зажигательной масс, после промывки шаровых мельниц, макальных плит и другого технологического оборудования.

Данные о составе сточных вод и методах их очистки весьма ограничены. В состав сточных вод Череповецкой спичечной фабрики входят такие загрязняющие вещества (мг/л): ClO_3^- – 731,0; Zn^{2+} – 33,8; Cr^{6+} – 27,5; Fe^{3+} – 19,9; Sb^{3+} – 22,0; ХПК – 224,0; БПК₅ – 95,4 т.е. в промышленном стоке содержатся токсические вещества и ионы, сброс которых в городскую канализационную сеть или водоемы недопустим без предварительного обезвреживания.

В практике нейтрализации таких вод чаще всего используется химическая очистка с применением железного купороса и каустической соды. Сущность метода заключается в восстановлении шестивалентного хрома в трехвалентную форму двухвалентным железом с дозой 50–60 мг/л и последующим выделением гидроксидов металлов щелочными агентами (доза 80–100 мг/л). Эффективность очистки вод от хрома и металлов – 90 %. В лабораторных условиях на реальном стоке Череповецкой спичечной фабрики было установлено, что для очистки вод до требований к сбросу в систему городской канализации дозы реагентов составили (г/л): сернокислого железа – 25,7; каустической соды – 6,8; серной кислоты – 1,5. При этом солесодержание очищенных вод возросло в 33,4 раза по сравнению с исходной водой (с 0,8 до 26,7 г/л). Объем образовавшихся шламов составлял 5–10 % количества обрабатываемого сырья [2]. Однако, изложенный метод не обеспечивает очистки сточных вод, образующихся при получении зажигательной массы, являющихся наиболее токсичной частью общего стока химических цехов спичечных фабрик от хлоратов, а образующаяся твердая фаза не могла быть вывезена на свалку ввиду ее взрыво- и пожароопасности, поскольку хлораты, входящие в ее состав, подобной обработкой не удаляются. Обезвредить такие стоки можно с применением биотехнологии, основанной на работе хлоратовосстанавливающих бактерий.

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния компонентов сточных вод на хлоратовосстанавливающую активность *Aerococcus dechloraticans* ТГС-463 методом математического планирования эксперимента.

Материалы и методы. Исследования проводили со штаммом *A. dechloraticans* ТГС-463, выделенным из пилотной установки по обезвреживанию сточных вод Череповецкой спичечной фабрики [1]. Посевным материалом служила двухсуточная культура *A. dechloraticans* ТГС-463, выращенная на среде, содержащей (г/л): NH_4Cl – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; KH_2PO_4 – 1,0; MgSO_4 – 0,2; KClO_3 – 2,0; мясопептонный бульон (МПБ) – 10 %, в пробирках, полностью заполненных питательной средой и закрытых резиновыми

пробками, при температуре 34 °С. Источник органического питания выбирали на основании изучения восстановления хлоратов этой культурой на вышеуказанной среде, куда в качестве доноров электронов вносили по 1,0 г/л натриевых солей органических кислот (уксусной, пропионовой, масляной), глюкозу (1 %), этиловый спирт (1 %), альбумин (1 %) или МПБ (контроль) 10 %. Изучение влияния компонентов сточных вод на хлорат-восстанавливающую активность *A. dechloraticans* ТГС-463 вели в два этапа. На первом этапе выясняли влияние нерастворимой трехвалентной сурьмы на рост и восстановление хлоратов в опыте, куда в среду для культивирования вносили Sb_2O_3 в концентрациях, соответствующих максимальному и минимальному содержанию ее в сточных водах (3,0–22,0 мг/л).

Для определения влияния на скорость восстановления хлоратов растворимых компонентов сточных вод был спланирован полный факторный эксперимент (ПФЭ) 2⁴ [3,4], где факторами служили загрязнители, содержащиеся в сточных водах; параметром оптимизации была скорость восстановления хлоратов. Факторы, влияющие на процесс, и уровни их варьирования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Наименование и уровни варьирования факторов ПФЭ 2⁴

Уровень варьирования	Фактор эксперимента			
	X ₁ [CrO ₄ ²⁻], мг/л	X ₂ [HPO ₄ ²⁻] и [H ₂ PO ₄ ⁻], мг/л	X ₃ [Zn ²⁺], мг/л	X ₄ [Fe ³⁺], мг/л
Нижний уровень (-)	5	10	2	5
Верхний уровень (+)	55	500	60	45
Нулевой уровень (0)	30	255	31	25
Интервал варьирования	25	245	29	20

Для постановки опыта готовились среды, состав каждой из которых определялся в соответствии с матрицей планирования эксперимента. В каждую среду вносились соединения, которые выступали факторами, в определенных количествах: CrO₄²⁻ в виде 1 % р-ра K₂CrO₄, HPO₄²⁻ и H₂PO₄⁻ в виде 10 % растворов одно- и двумещенного фосфата калия, [Zn²⁺] в виде однопроцентного сульфата цинка, [Fe³⁺] в виде цитрата трехвалентного железа, после чего объем каждой из сред доводился до 1000 мл минеральной основой такого состава (г/л): NH₄Cl – 2,0; MgSO₄ – 0,2; KClO₃ – 2,0; МПБ – 10 %. Кроме того, были поставлены три опыта на среде, где все факторы присутствовали на нулевом уровне. Опыты ставились в пробирках, доверху заполненных питательной средой и закрытых резиновыми пробками. Объем посева – 1 мл двухсуточной суспензии *A. dechloraticans* ТГС-463 плотностью 10⁸ кл/мл. Температура культивирования 34 °С. Продолжительность опыта – 5 суток, повторность трехкратная. Биомассу определяли нефелометрически. Количество хлоратов – перманганатометрическим методом [5]. Скорость восстановления хлоратов рассчитывали по формуле

$$V=(C_0 - C_k) / t, \text{ г/л} \cdot \text{час},$$

где: C₀ – начальная концентрация хлоратов; C_к – концентрация хлоратов в конце опыта; t – продолжительность опыта, час.

Обработку результатов факторного эксперимента проводили согласно рекомендациям [4]. Коэффициенты рассчитывали по алгоритму Иетса [3,4].

Результаты и их обсуждение. Штамм *A. dechloraticans* ТГС-463 хорошо восстанавливал хлораты на среде с белковыми источниками углерода: (альбумин, МПБ). Глюкоза и этиловый спирт использовалась несколько хуже. На средах с уксусной, пропионовой и масляной кислотами хлораты не восстанавливались (рис. 1).

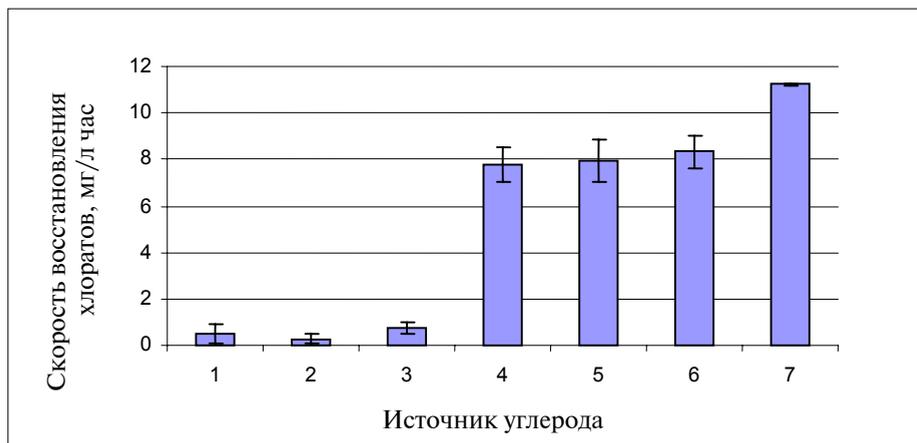


Рис. 1. Восстановление хлоратов культурой *A. dechloraticans* ТГС-463 на разных источниках углерода: 1 – уксусная к-та; 2 – пропионовая к-та; 3 – масляная к-та; 4 – глюкоза; 5 – этанол; 6 – альбумин; 7 – МПБ

Наличие трехвалентной сурьмы (22,0–3,0 мг/л) не влияло на хлоратовосстанавливающую активность *A. dechloraticans* ТГС 463. Скорость восстановления и рост биомассы в опыте была примерно одинаковыми (табл. 2).

Таблица 2

Вариант опыта	Биомасса, г/л АСВ	Скорость восстановления хлоратов, мг/л·час
МПБ (контроль)	0,26 ± 0,07	26,18 ± 0,09
МПБ+3 мг/л Sb_2O_3	0,27 ± 0,02	26,39 ± 0,05
МПБ+ 22,0 мг/л Sb_2O_3	0,27 ± 0,04	25,83 ± 0,03

Результаты полного факторного эксперимента и расчет коэффициентов регрессии приведены в табл. 3.

Таблица 3

№ опыта	$Y_{\text{сред.}}$, мг/л час	Расчет коэффициентов регрессии по алгоритму Иетса				Обозначение строк	Коэффициенты регрессии b_i	Ранжированный ряд $ C_u $	
		I шаг	II шаг	III шаг	IV шаг C_u				
1	13,89	y_1+y_2	18,94	35,86	57,56	98,06	1	6,13	
2	5,05	y_3+y_4	16,92	21,70	40,50	-19,42	X_1	-1,21	0,19
3	11,16	y_5+y_6	11,19	18,62	-15,88	-3,00	X_2	-0,19	0,36
4	5,76	y_7+y_8	10,51	21,88	-3,54	0,36	$X_1 X_2$	0,02	2,40
5	5,70	y_9+y_{10}	8,99	-14,24	-2,70	-10,90	X_3	-0,68	2,87
6	5,49	$y_{11}+y_{12}$	9,63	-1,64	-0,30	12,18	$X_1 X_3$	0,76	3,00
7	5,97	$y_{13}+y_{14}$	11,41	-1,56	2,22	-0,19	$X_2 X_3$	-0,01	3,56
8	4,54	$y_{15}+y_{16}$	10,47	-1,98	-1,86	-5,76	$X_1 X_2 X_3$	-0,36	4,08
9	4,79	y_2-y_1	-8,84	-2,02	-14,16	-17,06	X_4	-1,07	5,76
10	4,20	y_3-y_4	-5,40	-0,68	3,26	12,34	$X_1 X_4$	0,77	10,90
11	5,30	y_6-y_5	-0,21	0,64	12,60	2,40	$X_2 X_4$	0,15	12,18
12	4,33	y_8-y_7	-1,43	-0,94	-0,42	-4,08	$X_1 X_2 X_4$	-0,26	12,34
13	5,83	$y_{10}-y_9$	-0,59	3,44	1,34	17,42	$X_3 X_4$	1,09	13,02
14	5,58	$y_{12}-y_{11}$	-0,97	-1,22	-1,58	-13,02	$X_1 X_3 X_4$	-0,81	17,06
15	6,10	$y_{14}-y_{13}$	-0,25	-0,38	-4,66	-2,87	$X_2 X_3 X_4$	-0,18	17,42
16	4,37	$y_{16}-y_{15}$	-1,73	-1,48	-1,10	3,56	$X_1 X_2 X_3 X_4$	0,22	19,42

По результатам ПФЭ было рассчитано уравнение регрессии, адекватно описывающее влияние компонентов сточных вод на скорость восстановления хлоратов:

$$Y = 6,13 - 1,21X_1 - 0,68X_3 - 1,07X_4 + 0,76X_1X_3 + 0,77X_1X_4 + 1,09X_3X_4 - 0,81X_1X_3X_4$$

Как видно из полученных данных, основные загрязняющие вещества, содержащиеся в сточных водах, угнетают процесс восстановления хлоратов культурой *A. dechloraticans* ТГС-463. Наиболее сильное отрицательное влияние оказывал шестивалентный хром и трехвалентное железо ($-1,21X_1$, $-1,07X_4$). Цинк угнетал хлоратредукцию несколько меньше ($-0,68X_3$) и только взаимодействие факторов снижало их отрицательный эффект.

Поскольку основные значимые коэффициенты регрессии отрицательны, снижение уровня факторов X_1-X_4 должно сказаться на повышении скорости восстановления хлоратов. Поэтому было спланировано кругое восхождение от центра эксперимента (табл. 4).

Таблица 4

Расчет и результаты реализации кругого восхождения по данным ПФЭ 2⁴

	X_1	X_3	X_4	Скорость восстановления хлоратов, мг/л час
Коэффициент b_i	-1,21	-0,68	-1,07	
Коэффициент пропорциональности K_i	-0,8	-0,7	-0,5	
Шаги по кругому восхождению	-8	-7	-5	
Центр эксперимента, мг/л	30	31	25	
Фактор опыт	[CrO ₄ ²⁻], мг/л	[Zn ²⁺], мг/л	[Fe ³⁺], мг/л	
1	22	24	20	5,6
2	14	17	15	13,3
3	6	10	10	6,7

График, построенный по этим результатам, имеет вид:



Рис. 2. График по результатам кругого восхождения

Наличие экстремума на графике свидетельствует о попадании в точку оптимума во время эксперимента. Максимально возможная скорость восстановления хлоратов штаммом *A. dechloraticans* ТГС-463 в данных условиях будет достигаться на среде, содержащей CrO₄²⁻—14 мг/л; Zn²⁺—17мг/л; Fe³⁺—15 мг/л; т.е. реальные стоки целесообразно разводить. Для этих целей можно использовать очищенную сточную воду, поскольку, как показали наши исследования [1], кроме хлоратов штамм *A. dechloraticans* ТГС-463 восстанавливает также хроматы и сульфаты, что обеспечивает дополнительную очистку сточных вод.

Г.Ф. Смирнова

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

**ВПЛИВ КОМПОНЕНТІВ СТІЧНИХ ВОД
ВИРОБНИЦТВА СІРНИКІВ НА ХЛОРАТВІДНОВЛЮЮЧУ АКТИВНІСТЬ
AEROCOCCUS DECHLORATICANS TGS-463**

Резюме

Запропоновано математичну модель, що адекватно описує процес відновлення хлоратів культурою *Aerococcus dechloraticans* TGS-463 за наявності в середовищі компонентів, що входять до складу стічних вод виробництва запальних сумішей. Показано, що найбільш негативний вплив на швидкість утилізації хлоратів (за ступенем зменшення) спричиняють хромати, тривалентне залізо, цинк. Фосфати не впливають на хлоратредукцію.

Ключові слова: біологічне очищення стічних вод, *Aerococcus dechloraticans* TGS-463, хлорати, хлоратредукція.

G.F. Smirnova

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

**EFFECT OF SEWAGE COMPONENTS OF MATCH PRODUCTION
ON CHLORATE-REDUCING ACTIVITY OF *AEROCOCCUS DECHLORATICANS*
TGS-463**

Summary

A mathematical model has been offered which describes adequately the process of chlorates reduction by *Aerococcus dechloraticans* TGS-463 culture, the component of sewage from production of ignition mixtures being available in the medium. It is shown that chromates, trivalent iron and zinc take the most negative effect on the rate of chlorates utilization (by the degree of decrease). Phosphates have no effect on chlorate-reduction.

The paper is presented in Russian.

Key words: biologic treatment of sewage, *Aerococcus dechloraticans* TGS-463, chlorates, chlorate-reduction.

The author's address: G. F. Smirnova, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad.Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. *A.c. 1564122 СССР МКИ С 02 F 3/34, С 12 N 1/20* Штамм бактерий *Aerococcus dechloraticans* TGS-463, используемый для очистки сточных вод производства спичек /Н.С. Серпокрьлов, В.И.Семенов, В.П. Костюков и др.,. Оpubл. 15.05.90, бюл. №18.
2. *Биологическая очистка хромсодержащих промышленных сточных вод:* /Под ред. Е. И Квасникова, Н.С. Серпокрьлова – Киев: Наук. думка, 1990. – 109с.
3. *ВоробьевФ.П., Голобородько Н.К., Мануйлов А.М.* Математическое планирование эксперимента в биологии и медицине — Харьков: Виша школа,1977. — 143 с.
4. *Максимов В.Н.* Многофакторный эксперимент в биологии. — М.: Изд-во Моск. Ун-та,1980. — 280 с.
5. *Петрашень В.И.* Объёмный анализ. — М.: Наука, 1946. — 227с.

Отримано 12.10.2008