

МІНІСТЕРСТВО ЗАХИСТУ ДОВКІЛЛЯ ТА ПРИРОДНИХ РЕСУРСІВ
УКРАЇНИ
НАУКОВО-ДОСЛІДНА УСТАНОВА «УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-
ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ЕКОЛОГІЧНИХ ПРОБЛЕМ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЦИТЛІШВІЛІ КАТЕРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 579.695:504.45.058+628.355.2

ДИСЕРТАЦІЯ

**ЕКОЛОГІЯ ІММОБІЛІЗОВАНОГО АЗОТТРАНСФОРМУЮЧОГО
МІКРОБІОЦЕНОЗУ В СИСТЕМАХ ОЧИСТКИ СТІЧНИХ ВОД**

101 – Екологія
10 – Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ К. О. Цитлішвілі
(підпис)

Науковий керівник:

ЮРЧЕНКО Валентина Олександрівна
доктор технічних наук, професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Цитлишвілі К.О. Екологія іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу в системах очистки стічних вод. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 101 – Екологія. – Науково-дослідна установа «Український науково-дослідний інститут екологічних проблем», Харків, 2021.

Дисертацію присвячено вирішенню наукового завдання, яке спрямоване на використанні екологічних властивостей іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозів з вилучення сполук азоту зі стічних вод для захисту об'єктів гідросфери від евтрофікації.

Захист природних водойм від евтрофікації, викликаній скидом біогенних елементів у складі недостатньо очищених стічних вод – нагальна науково-практична екологічна проблема. Традиційно глибоке видалення сполук азоту з стічних вод біологічним методом засновано на використанні мікробіологічної нітрифікації (деамонізації середовища) та в сучасних схемах – мікробіологічної нітрифікації-денітрифікації (деазотації середовища). Останні відкриття в області мікробіологічного окиснення амонію (апаттох і сомтаттох процесів, амонійокиснюючих архей) привели до ревізії схем глобального циклу азоту, а особливо його окиснювальної частини – деамонізації середовища. Саме з апаттох процесом – аноксидним окисненням амонію до газоподібного азоту апаттох-планктоміцетами, провідні фахівці в галузі охорони навколишнього середовища пов'язують можливість кардинального поліпшення якості очищення води від сполук азоту через екологічні та економічні переваги цього методу. Проте мікробіологічна деамонізація та деазотація стічних вод, яка зумовлена життєдіяльністю автотрофних мікроорганізмів, ускладнюється присутністю в міських та в абсолютній більшості промислових стічних вод високих та надвисоких концентрацій органічних сполук, які кардинально інгібують автотрофні процеси. Інша проблема деамонізуючих та деазотуючих мікробіоценозів – необхідність поєднання в одному мікробіоценозі високоактивних мікробіологічних процесів, що потребують діаметрально

протилежних кисневих режимів. Одним з перспективних напрямків вирішення цих проблем є іммобілізація мікробіоценозів. Відомо, що в процесах біологічної очистки стічних вод іммобілізовані мікробіоценози мають багато переваг порівняно з вільно плаваючими. Проте екологія та особливості розвитку саме азоттрансформуючих іммобілізованих мікробіоценозів в умовах обробки висококонцентрованих за органічними забрудненнями стічних вод залишаються ще малодослідженими.

У роботі проведено аналіз та узагальнення відомостей щодо складу та властивості іммобілізованих мікробіоценозів в умовах обробки висококонцентрованих за органічними забрудненнями стічних вод.

Екологічні чинники розвитку азоттрансформуючих мікробіоценозів (в тому числі іммобілізацію) можливо використати в якості керуючих впливів на процеси очистки стічних вод. До того ж структура іммобілізованих мікробіоценозів, що складаються з різних видів, які знаходяться в симбіотичних відношеннях, дає підстави сподіватись на їх стратифікацію і за кисневими режимами, а, отже високу активність як мікроаерофільних, так і аноксидних та анаеробних азоттрансформуючих мікроорганізмів.

Дослідження екології азоттрансформуючого мікробіоценозу включало наступні напрями: дослідження складу мікробіоценозу (мікрообіологічними, фізіологічними та біохімічними методами), дослідження відносин між еколого-трофічними групами в мікробіоценозі, дослідження впливу екологічних умов (концентрації амонійного азоту та органічних речовин) на метаболізм окремих азоттрансформуючих груп мікроорганізмів. Ідентифікацію газоподібних метаболітів, що утворюються мікробіоценозом, виконали газохроматографічно. В інгібіторних експериментах використали чотири інгібітори, які пригнічують ключові ферменти окремих еколого-трофічних груп мікробіоценозу: АОБ, АОА, апатмох-бактерій, денітрифікуючих бактерій.

Результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що основними трофічними взаємовідносинами еколого-трофічних груп

мікроорганізмів в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі є мутуалізм та конкуренція.

Розроблено конструкцію та виготовлено лабораторну біодискову установку для дослідження впливу екологічних чинників на процеси деазотації та деамонізації стічних вод різного складу азоттрансформуючим мікробіоценозом, яка працювала у контактному та проточному режимах.

Визначено, що азоттрансформуючий мікробіоценоз сформованої біоплівки на інертному носії дискової установки представлений амоніфікаторами, АОБ (амонійокиснюючими бактеріями), АОА (амонійокиснюючими археями), НОБ (нітринокиснюючими бактеріями), апаттох-бактеріями та денітрифікуючими мікроорганізмами. Розроблено методологію визначення складу іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу очисної установки в присутності, так і за відсутності органічних речовин в стічній воді: фізіологічними, мікробіологічними і біохімічними тестами.

Встановлено керуючий вплив екологічних чинників на життєдіяльність іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу у контактному та проточному режимах обробки стічних вод, до яких відносяться: температура, концентрація розчиненого кисню, концентрація амонійного азоту, реакції середовища рН та найвагоміший екологічний чинник – присутність органічної речовини та її концентрація.

В процесі автоселекції просторовий розподіл еколого-трофічних груп мікроорганізмів в іммобілізованому мікробіоценозі відбувався таким чином, що у поверхневому шарі біоплівки в аеробних умовах розвиваються облигатні аероби – АОБ, АОА, НОБ та аеробні гетеротрофні мікроорганізми, а в нижньому шарі біоплівки розвиваються мікроаерофільні та анаеробні мікроорганізми, в тому числі – апаттох-бактерії та денітрифікуючі.

Дослідження впливу екологічних чинників: концентрації розчиненого кисню, рН середовища, температури та концентрації органічної речовини, на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при

обробці стічних вод в контактних умовах показало, що найвагомим фактором деамонізації та деазотації стічних вод цим мікробіоценозом є концентрація органічної речовини (ХСК).

Результати експериментальних досліджень в контактних умовах обробки показали, що ефект видалення $N-NH_4 + N_{орг}$ склав 57,6% при високих навантаженнях розчинених органічних сполук. Питома швидкість видалення $N-NH_4$ становить 1,6, $N-NH_4 + N_{орг}$ – 1,8 мг/(Г_{без. реч.} год).

Результати експериментальних досліджень показали, що іммобілізований мікробіоценоз протягом 6,6 год перебування стічної води в біореакторі активно та глибоко (до 99,5 %) окиснює органічні сполуки та активно (до 99,9 %) деамонізує середовище. Отже, за рахунок будови та структури біоплівки, просторових та трофічних відносин між еколого-трофічними групами іммобілізованого мікробіоценоза, який формувався в присутності надзвичайно високих концентрацій органічних речовин та високих концентрацій $N-NH_4$ в середовищі, в біоплівці склалися такі умови, які дозволяють активно метаболізувати як гетеротрофним, так і автотрофним мікроорганізмам й окиснювати як органічні сполуки, так і неорганічні сполуки.

При обробці висококонцентрованих, за органічними забрудненнями, стічних вод в проточних умовах культивування іммобілізований мікробіоценоз адаптувався до деамонізації середовища в екстремальних для автотрофної мікрофлори умовах: $ХСК \geq 823$ мгО/дм³. Оптимальним для процесів деазотації був мезофільний температурний режим, концентрація кисню в середовищі ≥ 4 мг/дм³. Питома швидкість видалення $N-NH_4$ в присутності органічних речовин досягала 1,6, за відсутності – 4,3 мг/(Г_{без.реч.} · год).

Розроблено екологічно безпечний спосіб очищення стічних вод від сполук азоту та розчинених органічних речовин в дисковому біореакторі до нормативних вимог для скиду в водний об'єкт.

В виробничих умовах проведено апробацію ефективності видалення сполук азоту (деазотації) іммобілізованим мікробіоценозом при обробці в

біодисковій установці та отримано Акт впровадження результатів дисертаційних досліджень на стайні ГО “ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК”.

Ключові слова: азоттрансформуючі мікробіоценози, екологія мікробіоценозів, екологічні чинники, іммобілізований мікробіоценоз, деазотація та деамонізація водного середовища, сполуки азоту, біодискова установка, стічні води.

ABSTRACT

Tsytlshvili K.O. Ecology of immobilized nitrotransforming microbiocenosis in the wastewater treatment systems.

Dissertation for the degree Doctor of Philosophy (Ph.D.) on a specialty 101 – Ecology – Scientific-research institution “Ukrainian scientific-research institute of ecological problems”, Kharkiv, 2021.

The dissertation is dedicated to solving of the scientific problem which shows the ecology properties of immobilized nitrotransforming microbiocenosis use for the destruction of nitrogen compounds from wastewater and water objects protection from eutrophication.

Protection from eutrophication, formed by from dump of biogenic elements which are the part of pollutants of wastewater – is one of the crucial, scientific-practical, ecologic problems. Usually a comprehensive removal of nitrogen compounds from wastewater by biological treatment based on microbiological nitrification (deamonisation of the environment) use and in a nowadays systems – microbiological nitrification-denitrification (denitrogenation-deasotation of the environment). The last discoveries in the area of microbiological oxidation of ammonia (anammox and commamox processes, ammonium oxidation arheys) have led to the revision of global schemes of the nitrogen cycle, and especially of his oxidation part – deammonisation of the environment. And because of the anammox process – anoxide ammonium oxidation to the gaseous form of nitrogen by anammox planctomycetes, the lead scientists from an environmental safety area explain the

possibility of a drastically quality improvement treatment of wastewater from nitrogen compounds due to ecological and economic benefits of this method. Therefore, microbiological deammonisation and deasotation of wastewater, which forms due to the autotrophic microorganisms lifecycle, complains by the presence, in the local and industrial wastewater (mostly in absolutely bigger amount) high and critical concentrations of organic compounds, which radically inhibiting autotrophic processes. Another problem of deammonisation and deasotation processes is – a necessity of a combination of high actively microbiological processes in one microbiocenosis, that requires completely different oxidation regimes. One of the promising ways for solving this issue is the an immobilization of microbiocenosis. It is known, that in processes of wastewater treatment the immobilized microbiocenosis have a lot of advantages in comparison with those that are freely floating. Nonetheless, the an ecology and specificities of growing of nitrotransforming immobilized microbiocenosis in conditions of highly-concentrated by organic compounds wastewater still have not been studied well.

The analysis of general knowledge of the composition and properties of immobilized microbiocenosis in the condition of highly-concentrated organic compounds of wastewater has been done.

The ecological factors of grow process of nitrotransforming microbiocenosis (including an immobilization) could be used as general influences on processes of wastewater treatment. Moreover, the structure of immobilized biocenosis, which contains from different species, and which are in the symbiotic relationship with, that all give the opportunity on their stratification by the oxidation regimes and because of that the high activity as microaerophilic as anoxide and anaerobic nitrotransforming microorganisms.

Ecological studies of nitrotransforming microbiocenosis included the following directions: the study of the composition of microbiocenosis (microbiological, physiological, and biochemical methods), the study of conditions between ecotrophic groups in the microbiocenosis, the study of the influence of ecological conditions (concentration of ammonia nitrogen and organic compounds) on

metabolism of separate nitrotransforming groups of microorganisms. The identification of gaseous metabolites that are forming by the microbiocenosis has been done by gas chromatography. In the inhibitory experiments the four inhibitors which decrease the basic enzymes of separate eco-trophic groups of microbiocenosis: AOB, AOA, anammox-bacteria, denitrification bacteria have been used.

Results from experimental studies that have been done, show that the general trophic relationships of eco-trophic microorganisms groups in a nitrotransforming immobilized microbiocenosis are mutualism and competition.

The scheme and laboratory biodisk device for the study of the ecological factors on processes of deasotation and deammonisation of a different wastewater quality by nitrotransforming microbiocenosis which worked in contact and flow regimes have been developed and built.

It has been studied, that the nitrotransforming microbiocenosis of formed biofilm on the inert surface of disk apparatus is presented by ammonifiers, AOB (ammonium oxidation bacterias), AOA (ammonium oxidation archeys), NOB (nitrooxidation bacterias), anammox bacteria and denitrification microorganisms. The methodology of determination of the immobilized nitrotransforming microbiocenosis composition of the treatment device with the presence and absence of organic matter in wastewater by physiological, microbiological and biochemical tests have been developed.

The leading influence of ecological factors on the immobilized nitrotransforming microbiocenosis lifecycle in a contact and flow mode of wastewater treatment have been studied, some of them are temperature, the concentration of dissolved oxygen, the concentration of dissolved ammonia, pH and the most crucial ecological factor – the organic matter presence and a concentration of it.

In a process of autoselection, the spatial distribution of eco-trophic groups of microorganisms in the immobilized microbiocenosis happens the way that in the upper layer of the biofilm in an anaerobic condition the obligation aerobics are evolved – AOB, AOA, NOB and aerobic heteromorph microorganisms and in the

lower level of the biofilm the microaerophiles and anaerobic microorganisms including – anammox and denitrification bacteria.

The studies of the influence of ecological factors: dissolved oxygen concentrations, pH, temperature and concentration of the organic substance on a transformation of nitrogen-containing compounds by immobilized microbiocenosis during wastewater treatment in the contact mode showed that crucial factor of deammonisation and deasotation of wastewater by this microbiocenosis is the concentration of organic matter (by COD).

The results of experimental studies showed that in the contact mode the treatment efficiency from $N-NH_4 + N_{org}$ is 57,6% (with a high concentration of organic matter presence). The specific velocity of treatment $N-NH_4$ is 1,6, $N-NH_4 + N_{org} - 1,8 \text{ mg}/(\text{g}_{ash. subst.} \cdot \text{h})$.

The results of experimental studies showed that presence of the immobilized biocenosis during 6,6 hours in the bioreactor with wastewater actively and comprehensively (up to 99,5%) oxidizes organic compounds and actively (up to 99,9%) deammonisation the environment. In this connection, due to the structure and form of the biofilm, a dimensional and trophic connection between ecotrophic groups of immobilized microbiocenosis which formed with a presence of a critically high concentration of organic substances and $N-NH_4$, the special condition in the biofilm is formed that allows actively to metabolize as heterotrophic and autotrophic microorganisms and oxidizes like organic and inorganic components.

With a highly concentrated wastewater treatment by organic pollution in the flow mode of cultivation, the immobilized microbiocenosis was adapting to the deammonisation of the environment in the extreme conditions for the autotrophic microflora: $COD \geq 823 \text{ mgO}/\text{dm}^3$. The optimum mesophilic temperature regime, for the process of deasotation, was with oxygen concentration in the area $\geq 4 \text{ mg}/\text{dm}^3$. The specific velocity of $N-NH_4$ removal with the presence of organic compounds reached 1.6 with absence – $4,3 \text{ mg}/(\text{g}_{ash. subst.} \cdot \text{h})$.

The ecofriendly method of wastewater treatment from nitrogen substances and dissolved organic compounds (that reach the limits for water body dump) in the disk bioreactor have been developed.

In a working condition the approbation of removal effectiveness of nitrogen compounds deasotation by immobilized microbiocenosis with processing in the biodisk apparatus have been approved, and the Act of implementation about results of dissertation studies on the stabling of PO "FELDMAN ECO-PARK" has been obtained.

Key words: nitrotransfoming microbiocenosis, the ecology of microbiocenosis, ecology factors, immobilized microbiocenosis, deasotation and deammonisation of water environment, nitrogen compounds, biodisk reactor, wastewaters.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні результати дисертації.

1. Matsak A., Tsytlshvili K., Rybalova O. Method of agricultural sewage water purification at troughsand a biosorption bioreactor. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2018. № 5(10), Issue 95. P. 16–25. DOI: 10.15587/1729-4061.2018.144138. (Scopus, EBSCO, Directory of Open Access Journals (DOAJ), OpenAIRE, Bielefeld Academic Search Engine (BASE), Index Copernicus та ін.). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження видалення сполук азоту зі стічних вод на дисковій установці, аналіз та розрахунки ефективності використання даного методу).
2. Цитлишвили Е.А. Удаление соединений азота и фосфора из сточных вод предприятий пищевой промышленности. *ГП «УкрНТЦ «Енергосталь» Екологія и промисленность*, 2018. № 3-4, Т. 56-57. С. 51–56. (Входить до переліку ВАК України). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження та комплексний аналіз процесів видалення біогенних елементів зі стічних вод харчової промисловості).

3. Цитлишвили Е.А., Проскурнин О.А. Обеспечение экологической безопасности сброса сточных вод предприятий пищевой промышленности. *Науковий вісник будівництва. ХНУБА*. 2019. № 2(96), Т. 2. С. 335–341. DOI: 10.29295/2311-7257-2019-96-2-335-341. (Academic Resource Index, CrossRef, Google Scholar, Google, IJIF, DRJI). (Особистий внесок здобувача: відбір проб, хімічний аналіз та обробка отриманих даних).

4. Васенко А.Г., Цитлишвили Е.А., Свиридов Ю.В., Брук В.В. Оценка влияния точечных источников загрязнения на качество воды украинской части дельты Дуная. *Вісник Хмельницького національного університету серія: Технічні науки*. 2020. № 1 (281). С. 57–62. DOI 10.31891/2307-5732-2020-281-1-57-62. (Google Scholar, Google Академія, eLIBRARY.RU). (Особистий внесок здобувача: проведено аналіз основних екологічних проблем точкових джерел забруднення на якість поверхневого водного об'єкту).

5. Юрченко В. О., Цитлішвілі К. О. Склад і міжвидові відносини в іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозах очисних споруд. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. Сільськогосподарські та технічні науки*. 2020. Вип. 96. Ч. 1. С. 355–368. DOI 10.31395/2415-8240-2020-96-1-355-368. (Index Copernicus, Google Scholar, eLIBRARY.RU). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження (фізіологічними, гідрохімічними, біохімічними та мікробіологічними методами) складу та міжвидових відносин мікробіоценозів біоплівки та аналіз результатів дослідження).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

6. Цитлішвілі К.О., Горбань Н.С. Експериментальні дослідження зниження концентрації сполук азоту в лабораторних умовах з використанням біологічних процесів. *Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти* : матер. V Міжнар. наук.-практ. конф. (Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського», 26–27 жовтня 2017). Київ, 2017. С. 222–224. (Особистий внесок здобувача: запропоновано спосіб очистки стічних вод підприємств харчової

промисловості з використанням дискової установки для підвищення рівня екологічної безпеки поверхневих водних об'єктів).

7. Юрченко В. О., Радіонов М.П., Цитлішвілі К.О. Глибока нітрифікація стічних вод як чинник активності нітрифікації в природній водоймі. VII-й Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнародною участю *Екологія/Ecology–2019*: збірник наукових праць. (Вінниця, ВНТУ, 25–27 вересня, 2019). Вінниця, 2019 С. 72. (Особистий внесок здобувача: досліджено та проаналізовано вплив чинників активності нітрифікації в природній водоймі).

8. Рибалова О., Бригада О., Сарапіна М., Мацак А., Цитлішвілі К. Заходи щодо зменшення впливу лісових пожеж на стан поверхневих вод. Збірник наукових праць: III міжнародна науково-технічна конференція *Водопостачання і водовідведення: проектування, будівництво, експлуатація, моніторинг*. (Львів, НУ «Львівська Політехніка», 23–25 жовтня 2019). Львів, 2019. С. 237–238. (Особистий внесок здобувача: обробка експериментальних даних).

9. Христенко А.М., Цитлішвілі К.О., Радіонов М.П., Юрченко В.О. Мікробіоценози біологічних очисних споруд, що перетворюють азотвмісні сполуки, та їх вплив на процеси в природних водоймах. *Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти: матер.* VI Міжнар. наук.-практ. конф. (Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського», 14–15 листопада 2019). Київ, 2019. С. 206–209. (Особистий внесок здобувача: розроблено методологію дослідження мікробіоценозу біологічних очисних споруд, що перетворюють азотвмісні сполуки).

10. Цитлішвілі К.О. Очищення стічних вод тютюнового виробництва на дисковому біореакторі. *Проблеми техногенно-екологічної безпеки: освіта, наука, практика*: Матер. Міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, НУЦЗУ, 21–22 листопада 2019). Харків, 2019 .С. 159–161. (Особистий внесок здобувача: визначення оптимальних параметрів видалення зі стічних вод сполук азоту, аналіз отриманих даних).

11. Горбань Н.С., Саввова О.В., Бабіч О.В., Зінченко І.В., Цитлішвілі К.О., Шостенко О.Ю., Аскретков М.М. Дослідження процесів очищення стічних вод нафтопереробної галузі від нафтопродуктів та сполук азоту. *Екологічна безпека: проблеми і шляхи вирішення*: зб. наук. статей XIII Міжнародної науково-практичної конференції. (Харків, УКРНДІЕП, 11–15 вересня 2017). Харків, 2017. С. 105–110. (Особистий внесок здобувача: постановка експерименту та обробка даних).

12. Зінченко І.В., Бабіч О.В., Саввова О.В., Цитлішвілі К.О., Шостенко О.Ю. Очищення стічних вод тютюнового виробництва. *Екологічна безпека: проблеми і шляхи вирішення*: зб. наук. статей XIV Міжнародної науково-практичної конференції. (Харків, УКРНДІЕП, 10 – 14 вересня 2018). Харків, 2018. Вип.40. С. 148–156. (Особистий внесок здобувача: визначено головні екологічні небезпеки стічних вод харчової промисловості, які потрапляють у водний об'єкт).

13. Зінченко І.В., Цитлішвілі К.О., Бикасов В.М. Дослідження способу інактивації антибіотиків шляхом його деструкції озono-повітряною сумішшю з метою захисту довкілля і здоров'я людини. *Екологічна безпека: проблеми і шляхи вирішення*: зб. наук. статей XV Міжнародної науково-практичної конференції (Харків, УКРНДІЕП, 9 – 13 вересня 2019). Харків, 2019. С. 172–174. (Особистий внесок здобувача: аналіз результатів дослідження впливу антибіотиків на мікробіоценоз біодискової установки).

14. Цитлішвілі К.О. Глибоке очищення стічних вод від сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом. Тези доповідей 74-ої науково-технічної конференції Харківського національного університету будівництва та архітектури. (Харків, ХНУБА, 5 – 6 березня 2019). Харків, 2019. С. 157–158. (Особистий внесок здобувача: проведений аналіз та експериментальні дослідження з підбору носіїв для іммобілізації азоттрансформуючого мікробіоценозу).

Патент на корисну модель.

15. Спосіб дослідження якості біологічного очищення стічних вод з використанням комплексного лабораторного устаткування : пат. 142646 Україна : МПК (2006.01) C02F 3/02. № u 2019 10647 ; заявл. 28.10.2019 ; опубл. 25.06.2020, Бюл. № 12.

Стаття, що опублікована у іншому виданні

16. Мацак А.А., Цитлишвили Е.А. Очистка дождевых сточных вод с применением фильтрующих насадок. Norwegian Journal of Development of the International Science. 2018. № 20, vol. 1. P. 19–22.

ЗМІСТ

Вступ.....	19
РОЗДІЛ 1. Екологія азоттрансформуючих мікробіоценозів як основа для підбору параметрів очистки стічних вод від сполук азоту.....	26
1.1 Перетворення сполук азоту в біосфері мікробними біоценозами та їх екологічні властивості.....	26
1.1.1 Біогеохімічний кругообіг азоту в біосфері.....	26
1.1.2 Мікробіологічні процеси в біогеохімічному кругообігу азоту в біосфері.....	27
1.1.3 Екологія азоттрансформуючих мікроорганізмів водних об'єктів.....	32
1.2 Самоочищення поверхневих водних об'єктів від сполук азоту.....	34
1.3 Використання екологічних властивостей азоттрансформуючих мікробіоценозів в біотехнологіях очистки промислових та міських стічних вод від сполук азоту.....	35
1.3.1 Екобіотехнології очищення стічних вод.....	35
1.3.2 Процеси біохімічної деструкції сполук азоту при очищенні міських стічних вод і екологія азоттрансформуючих мікробіоценозів в очисних спорудах.....	36
1.3.3 Процеси біохімічної деструкції сполук азоту при біологічному очищенні промислових стічних вод.....	41
1.4 Використання різних азотперетворюючих мікробіоценозів у сучасних інноваційних технологіях видалення сполук азоту зі стічних вод.....	42
1.5 Імобілізація азотперетворюючих мікробіоценозів як екологічний чинник інтенсифікації очистки стічних вод від сполук азоту.....	45

1.6. Вибір напряму дисертаційного дослідження.....	51
РОЗДІЛ 2. Об'єкти та методи експериментальних досліджень.....	53
2.1 Об'єкти експериментальних досліджень.....	53
2.1.1 Формування іммобілізованої на інертних носіях біоплівки мікроорганізмів-деструкторів для очищення стічних від органічних сполук та сполук азоту в виробничих умовах.....	53
2.1.2 Формування біоплівки азоттрансформуючих мікроорганізмів, збагаченої апаттох-бактеріями, в лабораторних умовах.....	55
2.2 Методи дослідження екології азоттрансформуючого мікробіоценозу.....	57
2.2.1 Методи дослідження складу азоттрансформуючого мікробіоценозу.....	57
2.2.2 Методи дослідження впливу екологічних чинників на перетворення сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом.....	64
2.3 Лабораторні установки для обробки стічних вод іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом.....	65
2.3.1 Конструкція і принципова схема роботи лабораторної біодискової установки.....	65
2.3.2 Вибір матеріалу носія.....	70
2.3.3 Методи дослідження екологічних характеристик іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу у контактному та проточному режимах обробки стічних вод на біодисковій установці.....	73
2.4 Склад натурних (реальних) та модельних стічних вод.....	75
2.5 Методи гідрохімічних досліджень.....	76
Висновки до другого розділу.....	78
РОЗДІЛ 3. Екологія іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу лабораторної очисної установки.....	80
3.1 Теоретичні передумови складу та міжвидових співвідношень в іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозах очисних споруд.....	80
3.2 Визначення основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, що входять в азоттрансформуючий мікробіоценоз та зумовлюють видалення	

амонійного азоту зі стічних вод.....	82
3.2.1 Мікробіологічні дослідження мікробного складу іммобілізованої біоплівки лабораторної установки.....	83
3.2.2 Фізіологічні дослідження мікробного складу іммобілізованої біоплівки лабораторної установки.....	86
3.2.3 Біохімічні дослідження мікробного складу іммобілізованої біоплівки лабораторної установки (інгібіторні експерименти).....	90
3.3 Взаємовідношення еколого-трофічних груп мікроорганізмів в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі.....	97
3.4 Вплив екологічних чинників на активність деамонізації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом в інгібіторних експериментах.....	100
Висновки до третього розділу.....	101
РОЗДІЛ 4. Експериментальні дослідження впливу екологічних чинників на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі у контактних умовах.....	104
4.1 Біологічні та технологічні характеристики іммобілізованого мікробіоценозу в лабораторній біодисковій установці.....	104
4.1.1 Теоретичні основи нарощування іммобілізованого мікробіоценозу та особливості його метаболізму.....	104
4.2 Концентрація біомаси в лабораторній біодисковій установці та її седиментаційні властивості.....	108
4.3 Вплив екологічних чинників на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі у контактних умовах.....	111
4.3.1 Ефективність видалення азотвмісних забруднень.....	111
4.3.2 Вплив пріоритетного екологічного чинника – концентрації органічних речовин, на перетворення неорганічних азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при контактному режимі обробки стічних вод.....	114
4.3.3 Динаміка екологічних чинників деамонізації та деазотації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом при обробці у контактному режимі.....	120

4.3.4 Динаміка концентрацій органічних сполук азоту при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом у контактних умовах.....	123
Висновки до четвертого розділу.....	126
РОЗДІЛ 5. Експериментальні дослідження впливу екологічних умов на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі у проточних умовах.....	129
5.1 Склад та характеристика стічних вод, які оброблялись в лабораторному біореакторі у проточних умовах іммобілізованим мікробіоценозом.....	129
5.2 Вплив екологічних чинників на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі у проточних умовах.....	131
5.3 Дослідження процесу видалення азотвмісних сполук іммобілізованими біоценозами в біореакторі у проточних умовах.....	143
5.4 Оцінка використання біодискової установки для екологічно безпечного видалення сполук азоту зі стічних вод іммобілізованим біоценозом.....	150
Висновки до п'ятого розділу.....	152
Загальні висновки.....	156
Список використаних джерел.....	158
ДОДАТКИ.....	181
ДОДАТОК А.....	182
ДОДАТОК Б.....	186
ДОДАТОК В.....	187

ВСТУП

Актуальність теми. Захист природних водойм від евтрофікації, викликаной скидом біогенних елементів у складі недостатньо очищених стічних вод – нагальна науково-практична екологічна проблема. Традиційно глибоке видалення сполук азоту з стічних вод біологічним методом засновано на використанні мікробіологічної нітрифікації (деамонізації середовища) та в сучасних схемах – мікробіологічної нітрифікації-денітрифікації (деазотації середовища). Останні відкриття в області мікробіологічного окиснення амонію (анамтох і сомтатох процесів, амонійокиснюючих архей) привели до ревізії схем глобального циклу азоту, а особливо його окиснювальної частини – деамонізації середовища. Саме з анамтох процесом – аноксидним окисненням амонію до газоподібного азоту анамтох-планктоміцетами, провідні фахівці в галузі охорони навколишнього середовища пов'язують можливість кардинального поліпшення якості очищення води від сполук азоту через екологічні та економічні переваги цього методу. Проте мікробіологічна деамонізація та деазотація стічних вод, яка зумовлена життєдіяльністю автотрофних мікроорганізмів, ускладнюється присутністю в міських та в абсолютній більшості промислових стічних вод високих та надвисоких концентрацій органічних сполук, які кардинально інгібують автотрофні процеси. Інша проблема деамонізуючих та деазотуючих мікробіоценозів – необхідність поєднання в одному мікробіоценозі високоактивних мікробіологічних процесів, що потребують діаметрально протилежних кисневих режимів. Одним з перспективних напрямків вирішення цих проблем є іммобілізація мікробіоценозів. Відомо, що в процесах біологічної очистки стічних вод іммобілізовані мікробіоценози мають багато переваг порівняно з вільно плаваючими. Проте екологія та особливості розвитку саме азоттрансформуючих іммобілізованих мікробіоценозів в умовах обробки висококонцентрованих за органічними забрудненнями стічних вод залишаються ще малодослідженими.

Екологічні чинники розвитку азоттрансформуючих мікробіоценозів (в тому числі іммобілізацію) можливо використати в якості керуючих впливів на процеси очистки стічних вод. До того ж структура іммобілізованих мікробіоценозів, що складаються з різних видів, які знаходяться в симбіотичних відношеннях, дає підстави сподіватись на їх стратифікацію і за кисневими режимами, а, отже високу активність як мікроаерофільних, так і аноксидних та анаеробних азоттрансформуючих мікроорганізмів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Основні положення дисертаційної роботи виконано відповідно законодавчо-нормативним актам: Закон України «Про охорону навколишнього природного середовища» від 25.06.91 №1264-ХІ, Закон України «Про Основні засади (стратегію) державної екологічної політики України на період до 2020 року». Дисертаційна робота виконана в лабораторії міських та виробничих стічних вод в рамках науково-дослідної тематики науково-дослідної установи «Український науково-дослідний інститут екологічних проблем» від 13.12.2018 р. «Розроблення інноваційної технології очищення стічних вод від сполук азоту для підвищення екологічної безпеки водних об'єктів» (№ держреєстрації 0118U000507), в якій здобувач проводив дослідження як відповідальний виконавець. «Розроблення рекомендацій щодо попередження забруднення водних екосистем концентрованими стічними водами харчової промисловості» (№ держреєстрації 0119U102779) від 05.12.2019 р. (2019 – 2021), в якій здобувач була виконавцем окремих етапів.

Метою роботи є використання екологічних властивостей іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозів для глибокого, екологічно безпечного, енергозаощадливого видалення сполук азоту зі стічних вод для захисту об'єктів гідросфери від евтрофікації.

Об'єкт дослідження: Іммобілізований азоттрансформуючий мікробіоценоз.

Предмет дослідження: видалення сполук азоту іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом зі стічних вод різного складу під впливом різних екологічних чинників.

Для досягнення мети поставлено та вирішено наступні завдання:

1. Науково проаналізувати та встановити за даними науково-технічної літератури склад азоттрансформуючих мікробіоценозів, вплив на них екологічних чинників, взаємовідносини різних видів та використання в технологіях очистки стічних вод.

2. Розробити конструкцію та виготовити лабораторні біодискові установки, які працюють в контактному та проточному режимах роботи, наростити іммобілізовану біомасу та розробити методологію визначення складу іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу.

3. Експериментально (за мікробіологічними, фізіологічними та біохімічними показниками) встановити еколого-трофічні групи мікроорганізмів, що входять в азоттрансформуючий мікробіоценоз лабораторної установки, трофічні та просторові відносини між цими групами, вплив на їх активність екологічних чинників (органічних речовин і концентрації NH_4^+).

4. Експериментально визначити показники впливу екологічних чинників (концентрації органічних речовин, концентрації NH_4^+ , температури, концентрації розчиненого кисню) на очистку висококонцентрованих (за органічними сполуками) промислових стічних вод від сполук азоту та супутніх забруднень іммобілізованим мікробіоценозом в біодисковій установці в контактних та проточних умовах.

5. Експериментально визначити показники впливу екологічних чинників (концентрації NH_4^+ , температури, концентрації розчинного кисню) на очистку мінералізованих модельних стічних вод від сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом в біодисковій установці в контактних та проточних умовах.

6. В виробничих умовах провести апробацію ефективності видалення сполук азоту (деазотації) з реальних стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом при обробці в біодисковій установці.

Методи дослідження: В дисертаційному дослідженні використано загальнонаукові теоретичні та емпіричні методи дослідження. Визначення основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, що входять в азоттрансформуючий мікробіоценоз, виконали мікробіологічними, фізіологічними і біохімічними (інгібіторні експерименти) методами. Особливості перетворень сполук азоту іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом при обробці стічних вод різного складу та кількісні показники впливу екологічних чинників на процеси очищення досліджували експериментально в лабораторній біодисковій установці при контролі мікробних метаболітів титрометричними, потенціометричними, фотоколориметричними, газохроматографічними, гравіметричними методами. Статистичну обробку експериментальних даних було виконано із застосуванням комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Наукова новизна одержаних результатів:

Вперше:

- теоретично обґрунтовано та експериментально встановлено склад іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу біодискової установки та трофічні й просторові відносини між різними азоттрансформуючими групами.
- експериментально визначено кількісні показники впливу екологічних чинників (t, розчиненого кисню, рН середовища, органічних речовин за ХСК) на деамонізацію та деазотацію стічних вод іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом та його окремими еколого-трофічними групами.

Удосконалено:

- методологію дослідження екології азоттрансформуючих мікробіоценозів шляхом використання мікробіологічних, фізіологічних та біохімічних (інгібіторні експерименти) показників.

Набуло подальшого розвитку:

- теоретичні та практичні уявлення про можливості іммобілізованих мікробіоценозів високоефективно видаляти сполуки азоту (в тому числі шляхом нітрифікації) з висококонцентрованих (за органічними забрудненнями) стічних вод;
- технологія глибокого вилучення органічних та неорганічних сполук азоту з концентрованих стічних вод при обробці в біодисковій установці.

Практичне значення отриманих результатів. На основі проведеного науково-теоретичного аналізу і експериментальних випробувань розроблено спосіб дослідження якості біологічного очищення стічних вод іммобілізованим біоценозом на інертному носії з використанням лабораторного устаткування (Патент № 142646). Розроблено екологічно безпечний спосіб очищення стічних вод від сполук азоту та розчинених органічних речовин в дисковому біореакторі до нормативних вимог для скиду в водний об'єкт. Результати дисертаційної роботи впроваджено на ГО “ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК”. (Акт впровадження від 24.09.2019).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційне дослідження є самостійно підготовленою науковою працею, у якій проведено аналіз літературних джерел за темою дисертаційної роботи, визначено мету і задачі роботи, досліджено екологію іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу мікробіологічними, біохімічними, фізіологічними, гідрохімічними та фізико-хімічними методами [6, 7]. Особистий внесок здобувача складається з проведення експериментальних досліджень [1, 2, 3, 11, 12], оброблення отриманих даних [4, 5] та формулювання загальних положень і висновків. Автор брав участь в розробці й виготовленні лабораторної біодискової установки для іммобілізації азоттрансформуючого мікробіоценозу (пат. України № 142646) [17] та в дослідженнях з обробки на ній модельних і

реальних стічних вод [8]; визначенні кількісних показників впливу екологічних чинників на перетворення сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом в контактних та проточних умовах [9, 13, 16].

Автором особисто проведено та здійснено інструментально-лабораторні вимірювання для визначення основних кінетичних параметрів перетворення сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом, деамонізації та деазотації водного середовища.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень доповідались та обговорювались на науково-практичних і науково-технічних конференціях і семінарах: V Міжнародній науково-практичній конференції. Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти», (26 – 27 жовтня 2017 р., м. Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського»), XIII Міжнародній науково-практичній конференції (11 – 15 вересня 2017 р., м. Харків, УКРНДІЕП), XIV Міжнародній науково-практичній конференції. Екологічна безпека: проблеми і шляхи вирішення (10 – 14 вересня 2018 р., м. Харків, УКРНДІЕП), XV Міжнародній науково-практичній конференції (9 – 13 вересня 2019 р., м. Харків, УКРНДІЕП), 74-й науково-технічній конференції Харківського національного університету будівництва та архітектури (5 – 6 березня 2019 р., м. Харків, ХНУБА), VII-му Всеукраїнському з'їзді екологів з міжнародною участю. Екологія/Ecology–2019, (25 – 27 вересня, 2019 р., м. Вінниця, ВНТУ), III Міжнародній науково-технічній конференції водопостачання і водовідведення: Проектування, будівництво, експлуатація, моніторинг. (23 – 25 жовтня 2019, м. Львів, НУ «Львівська Політехніка»), VI Міжнародній науково-практичній конференції. Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти (14 – 15 листопада 2019 р., м. Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського»).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 16 наукових праць, серед них: 4 публікацій у фахових виданнях України, 1 стаття у виданні, що індексується в наукометричній базі Scopus, 9 тез доповідей у всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференціях, 1 патент на корисну модель та 1 стаття, що опублікована у іншому виданні.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Повний обсяг дисертації становить 187 сторінок: 131 сторінок основного тексту, 40 рисунків, 30 таблиць (5 таблиць займають повністю площу 5 сторінок), список використаних джерел з 200 найменувань на 22 сторінках і 3 додатки на 6 сторінках.

РОЗДІЛ 1

ЕКОЛОГІЯ АЗОТТРАНСФОРМУЮЧИХ МІКРОБІОЦЕНОЗІВ ЯК ОСНОВА ДЛЯ ПІДБОРУ ПАРАМЕТРІВ ОЧИСТКИ СТІЧНИХ ВОД ВІД СПОЛУК АЗОТУ

1.1. Перетворення сполук азоту в біосфері мікробними біоценозами та їх екологічні властивості

1.1.1 Біогеохімічний кругообіг азоту в біосфері

Азот (N) є одним із ключових елементів живлення для всіх форм життя [1]. Різні ступені окиснення (від -3 до $+5$) азоту визначають його виняткову хімічну реакційну здатність, різноманітність форм його знаходження у природному середовищі та міграції. Азот виділяється високою рухливістю і великою швидкістю метаболізації [2, 3].

Азот є одним із основних біогенних елементів планети Земля, головним компонентом живої матерії, що відіграє найважливішу роль у житті рослин і тварин [4, 5]. Потужний резервуар азоту – земна атмосфера, де його запаси становлять приблизно 4 трлн т (78% її складу). Біологічна продуктивність наземних і водних екосистем, а також біосфери в цілому істотно залежить від джерел зв'язаного азоту [6]. З усієї біорізноманітності живої матерії лише незначна кількість організмів здатна більшою чи меншою мірою забезпечувати себе азотом, тоді як мікроорганізми-азотфіксатори забезпечують не тільки себе, але і всю біосферу біологічним азотом, а також - його резервування у вигляді різних азотовмісних сполук [7, 8]. Отже, джерело азоту — це, з одного боку, атмосферне повітря, а з іншого – азот, який міститься у відмерлих рослинах і тваринах.

Від джерел зв'язаного азоту істотно залежить біологічна продуктивність екосистем. Для синтезу рослинами амінокислот і білків джерелом азоту слугують нітрати ґрунту й води. Рослини поїдаються тваринами, які в свою чергу використовують амінокислоти рослинних білків для синтезу своїх власних амінокислот, білків і інших сполук азоту. У тваринних організмів

виведення надлишків азоту відбувається шляхом відщеплення амінів (NH_2) від органічних сполук і виділення їх у зовнішнє середовище у вигляді аміаку NH_3 або сечовини $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. Коли тварини і рослини вмирають, гнильні бактерії руйнують ці сполуки; при цьому азот, що в них міститься, виділяється у вигляді аміаку (рис. 1.1).

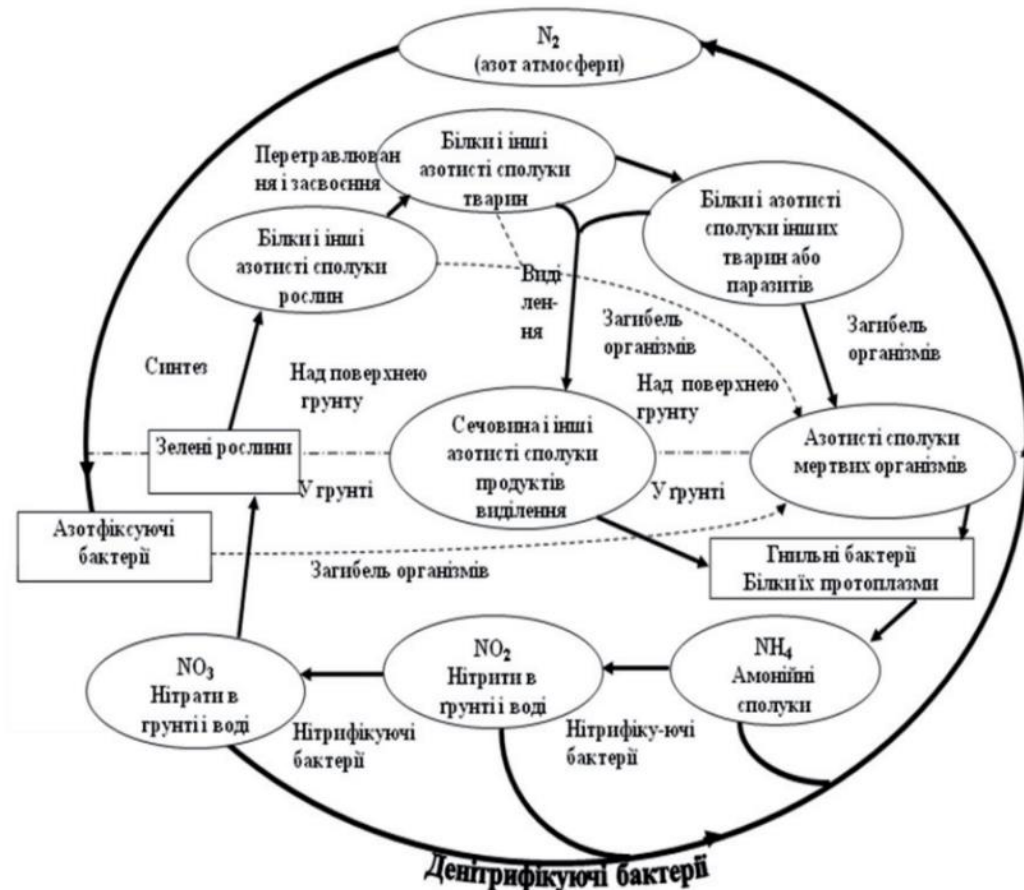


Рисунок 1.1 – Кругообіг азоту в біосфері

1.1.2 Мікробіологічні процеси в біогеохімічному кругообігу азоту в біосфері

Найважливіша роль мікроорганізмів полягає у формуванні та підтримці протягом тисячоліть біогеохімічного циклу азоту, в тому числі і за рахунок його біологічної азотфіксації [9 – 11] (рис.1.2).

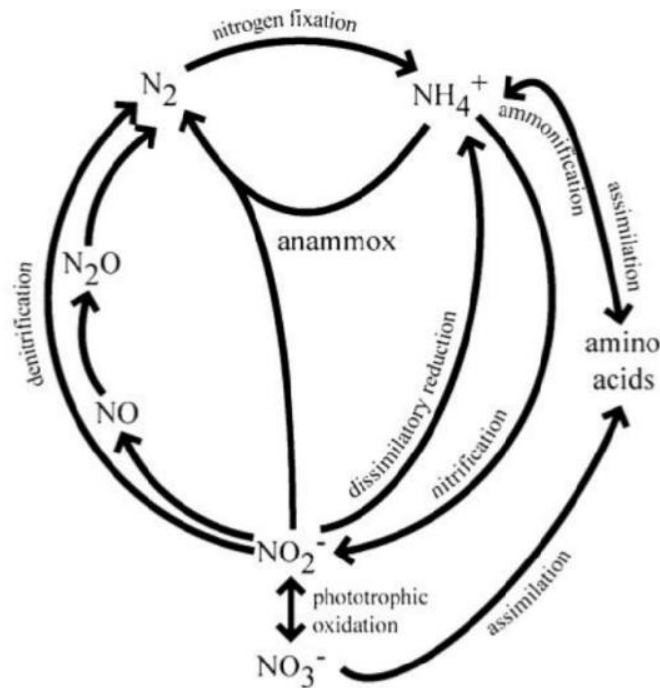


Рисунок 1.2 – Спрощена схема мікробіологічних процесів в глобальному циклі азоту [12]

Вільний азот атмосфери можуть використовувати лише окремі організми — фіксатори азоту — вільно існуючі аеробні бактерії (*Azotobacter*), симбіотичні анаеробні бактерії *Clostridium*, які живуть у бульбочках на корінні бобових, і деякі синьо-зелені водорості. Мікробіологічна фіксація N_2 переводить його в NH_4^+ - найкращу азотвмісну сполуку для споживання рослинами, оскільки його перетворення в органічні сполуки вимагає мінімальної хімічної перебудови. Біологічна фіксація молекулярного азоту вільноіснуючими і симбіотичними мікроорганізмами відбувається як в автотрофному, так і в гетеротрофному блоках екосистеми.

В поверхневих водах азот мігрує, в основному, у трьох формах: NO_3^- , NO_2^- та NH_4^+ , в результаті діяльності мікроорганізмів автотрофної та гетеротрофної ланки в аеробних і анаеробних умовах [13]. Кругообіг сполук азоту здійснюється за рахунок процесів амоніфікації, нітрифікації, денітрифікації та азотфіксації (рис 1.3).

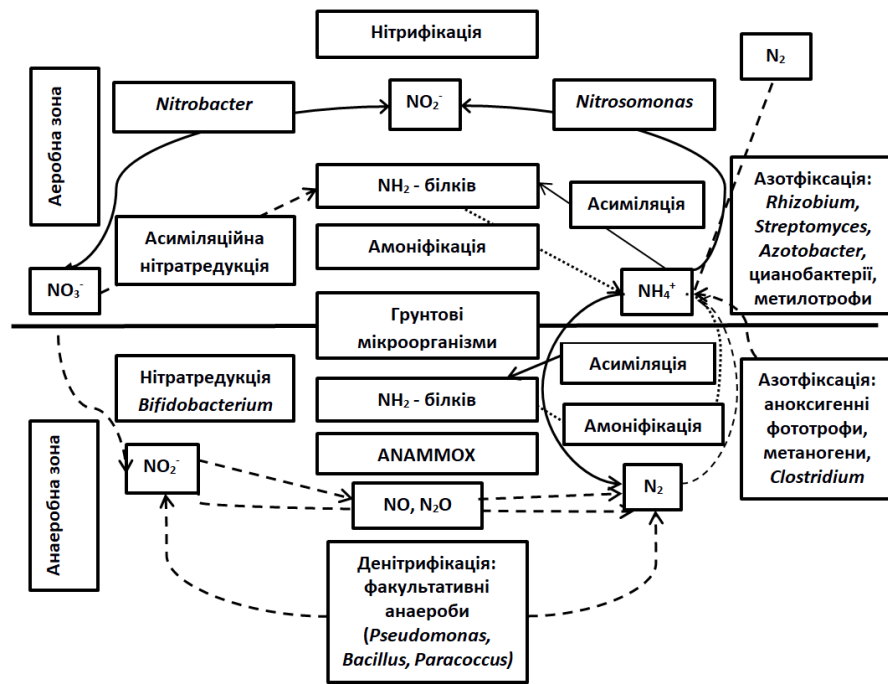
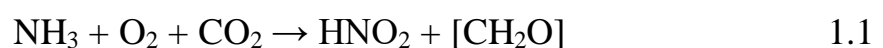
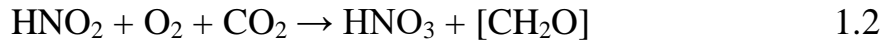


Рисунок 1.3 – Глобальний цикл азоту і азоттрансформуючі мікробіологічні процеси [14]

У водоймах процес фіксації азоту забезпечують синьо-зелені водорості. Найбільш активні азотфіксатори трапляються серед представників родів *Anabaena*, *Nostoc*, *Calothrix* і *Aphanizomenon*. Причому синьо-зелені водорості можуть фіксувати азот як самостійно, так і в симбіозі з іншими організмами – грибами, саговниками, водяними папоротями та ін. [15, 16]. Кількість фіксованого в таких умовах азоту може перевищувати 300 кг/га в рік [17, 18]. Важлива роль належить і гетеротрофним бактеріям, насамперед представникам родів *Cylindrospermum*, *Trichormus* та *Aphanizomenon* [19 – 21].

У процесі кругообігу азоту відбувається поетапний розпад азотовмісних органічних сполук. Мікробіологічні перетворення азотовмісних сполук відбуваються кількома шляхами. Найважливіші з них – це амоніфікація і нітрифікація, тобто розпад органічних сполук з виділенням NH_4^+ та подальше окиснення азоту до валентності +5 в NO_3^- . Вирішальним етапом кругообігу азоту є нітрифікація. Процес нітрифікації в аеробних умови протікає у двох стадіях і здійснюється двома групами бактерій [22]:



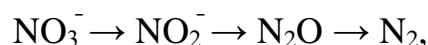


Першу фазу нітрифікації здійснюють хемолітоавтотрофні бактерії (*Nitrosomonas*, *Nitrosocystis*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*), що окиснюють іони амонію до нітритів, другу фазу нітрифікації здійснюють бактерії родів *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrocystis*, *Nitrospira*, які окиснюють нітрити до нітратів [23].

Наразі дослідженнями останніх років склад нітрифікуючих мікроорганізмів суттєво розширений [24]. Нітрифікуючі мікроорганізми включають як амонійокиснюючі бактерії, так і археї. До автотрофної нітрифікації здатні архебактерії типу *Thaumarchaeota* (АОБ і АОА відповідно), які здійснюють 6-електронне окиснення NH_3 до NO_2^- (нітрифікатори I фази), і нітритоокиснюючі бактерії (НОБ, нітрифікатори II фази), які здійснюють 2-електронне окиснення NO_2^- до NO_3^- . Сучасні відкриття в області мікробіологічного окиснення амонію привели до ревізії схем глобального циклу азоту і до додавання нових «гілок» в його окиснювальну частину. А саме, описано «повні окиснювачі NH_3 » (COMMAМОХ) бактерії, які здійснюють 8-електронне окиснення NH_3 до NO_3^- . Наприклад, бактерії роду *Nitrospira* самостійно здійснюють повну нітрифікацію амонію в нітрат, тобто один мікроорганізм проводить обидві фази процесу [25 – 27].

Крім автотрофних бактерій до гетеротрофної нітрифікації азотовмісних органічних сполук (без генерування метаболічної енергії) здатні мікроорганізми *p.p. Arthrobacter*, *Flavobacterium* і *Thiosphera* [28, 29].

Деазотація середовища шляхом відновлення нітратів і нітритів до молекулярного азоту (N_2) й вивільнення його в атмосферу [30] відбувається при дисиміляційній мікробіологічній денітрифікації. Денітрифікація, в процесі якої нітрати перетворюються в азот, відбувається у декілька етапів:



Причому на кожному з них виділяються газоподібні продукти: діоксид азоту, закис азоту (N_2O) і молекулярний азот (N_2). Сумарна реакція

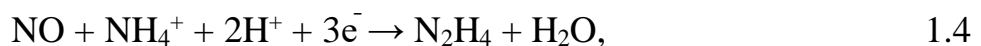
денітрифікації, що включає синтез клітин біомаси, описується наступним рівнянням [31]:



До денітрифікуючих мікроорганізмів відносяться дуже поширені в природі факультативні анаероби (головним чином родів *Bacillus* і *Pseudomonas*), які здатні відновлювати азот з його окислених форм тільки в відсутності молекулярного кисню, при генеруванні метаболічної енергії (дисиміляційна нітратредукція, нітратне дихання [32]). Нітроти та нітрати використовуються денітрифікуючими мікроорганізмами як кінцеві акцептори електронів при окисленні органічних субстратів для отримання енергії [33].

Відновлення нітратів може відбуватися і в реакціях конструктивного метаболізму, що не приводять до отримання енергії, так званої асиміляційної нітратредукції [34].

Поряд з денітрифікаторами "постачальниками" вільного молекулярного азоту в атмосферу є відкриті на початку 1990-х рр. апаттох-бактерії (ідентифіковані як планктоміцети – *Plantomycea*), які здійснюють в анаеробних умовах окиснення NH_4^+ при відновленні NO_2^- до газоподібного азоту. До теперішнього часу відкрито п'ять кандидатних родів анаеробно окиснюючих амоній-бактерій з видової ідентичністю 16S рРНК в діапазоні 87 – 99 % [35]. Апаттох-процес включає три основні етапи:



Процес широко розповсюджений в природі: завдяки йому утворюється основна частина атмосферного азоту над океаном. Розраховано, що до 70% газоподібного азоту в природі утворюється за рахунок анаеробного окислення амонію (апаттох-процесу) [36, 37].

Апаттох-бактерії виявлені в морях і океанах та в різних прісноводних екосистемах, включаючи гарячі джерела. Причому анаеробне окиснення

амонію може функціонувати паралельно з денітрифікацією. Ці процеси здатні взаємодіяти, той або інший домінує в залежності від умов середовища.

1.1.3 Екологія азоттрансформуючих мікроорганізмів водних об'єктів

В задачі екології мікробіоценозів входить виявлення різноманіття азоттрансформуючих мікроорганізмів та їх взаємодію в природному середовищі, а також визначення їх активностей у властивому для них місці проживання [38 – 41]. Водні мікроорганізми присутні в планктоні і бентосі, які прикріплюються до плаваючих частинок та донних відкладень. Вони здійснюють у водному об'єкті замкнені цикли основних елементів.

Азотфіксація у водних екосистемах здійснюється переважно за рахунок синьо-зелених водоростей родів *Nostoc*, *Anabaena*, *Calothrix* і *Aphanizomenon*, але важлива роль належить і гетеротрофним бактеріям представники родів *Cylindrospermum* та *Trichormus* [19 – 21]. Азот, отриманий за рахунок азотфіксації може включатися у біомасу водоростей чи бактерій. На процес азотфіксації впливає відношення N/P. Зокрема, при нестачі азоту і низькому відношенні N/P часто домінують здатні до азотфіксації види *Cyanophyta*. Оптимум фіксації азоту спостерігається у досить вузькому діапазоні величин рН води – 7,0 - 7,5 [42].

Нітрифікуюча мікрофлора, в переважній більшості автотрофні мікроорганізми і облігатні аероби, активність яких пригнічується органічними сполуками (в концентраціях оптимальних для гетеротрофних прокариот) та нестачею кисню – показниками, які зумовлюють трофність водойм. Тому в оліготрофних водоймах концентрація нітрифікуючих бактерій більша, ніж в евтрофних. Реакція середовища для нітрифікаторів, що здійснюють першу фазу нітрифікації, знаходиться в інтервалі рН 7,2 – 8,6. Оптимальними показниками для нітрифікації є діапазон температур від 15 до 35 °С. Концентрація розчиненого кисню для забезпечення першої фази нітрифікації повинна перевищувати 1 мг/дм³. Бактерії другій фази нітрифікації функціонують у

вузьких межах нейтральних значень рН 7,0 – 7,6. Асиміляція CO₂ здійснюється у циклі Кальвіна. Оптимальні температурні умови для росту нітрифікуючих бактерій 25 – 30 °С [34, 43, 44].

Солоність є ключовим фактором, що визначає поширення апаттох-бактерій. Прісноводне місцепроживання найбільш різноманітне за складом апаттох-спільнот, морські екосистеми характеризуються меншим розмаїттям. Оптимальний для апаттох-процесу діапазон температур становить 20 – 40 °С, тоді як діапазон температур зростання апаттох-бактерій значно ширше (від 15 до 45 °С) [35, 45]. Діапазон фізіологічних значень рН для апаттох-бактерій становить 6,5 – 8,8 з оптимумом, як правило, близько рН = 8. Апаттох-бактерії, найімовірніше, є облигатними анаеробами і втрачають активність в аеробних умовах, інгібування має оборотний характер. Апаттох-бактерії відрізняються високою спорідненістю до основних субстратів (амонію і нітриту), однак при високих концентраціях нітриту процес відзначається інгібуванням. Активність апаттох-процесу знижується на 63% від нормальної активності при концентрації фосфатів 55 мг Р/дм³ і продовжує падати при подальшому збільшенні вмісту фосфатів. Спирти також чинять інгібуючий ефект на апаттох-бактерії. Апаттох-бактерії виявляють тенденцію до зростання у вигляді біоплівки, що сприяє утриманню цих бактерій на поверхні носія [35]. Є докази того, що в популяції апаттох-бактерій мають місце внутрішньовидові взаємодії за принципом "кворум-сенсінг" – здатності синхронізувати поведінку клітин при досягненні певного розміру популяції (досягнення «quorum»). Система quorum sensing регулює цілий ряд активностей у різних бактерій, в тому числі утворення біоплівки [35].

Донний мул водних об'єктів – екологічній ніша розвитку факультативних та облигатних анаеробів. В цьому середовищі (в анаеробних умовах при відсутності розчиненого кисню та наявності розчинених органічних субстратів) активно відбувається денітрифікація. Оптимальні температури для денітрифікації 10 – 35 °С, діапазон рН 6,0 – 9,0 [46].

1.2. Самоочищення поверхневих водних об'єктів від сполук азоту

Самоочищення водних систем обумовлено багатьма природними, а іноді і техногенними факторами [47]. До числа таких факторів належать різні гідрологічні, гідрохімічні і гідробіологічні процеси. Умовно можна виділити три типи самоочищення: фізичне, хімічне, біологічне [48].

Швидкість самоочищення залежить від багатководності, швидкості течії води і вітру, що сприяють перемішуванню води у водоймі. В озерах і водосховищах вода очищається тим інтенсивніше, чим більше за обсягом самі водойми. У дрібних водоймах процеси самоочищення виражені вкрай слабо. При цьому аеробні процеси відбуваються переважно у верхніх шарах водойми, а анаеробні – на дні водойми, куди кисень не надходить. В результаті цих процесів органічні речовини, розпадаються на менш складні, поступово мінералізуються [49].

Серед фізичних процесів першорядне значення має розведення (перемішування). Гарне перемішування і зниження концентрації завислих часток забезпечується інтенсивною течією річок. Сприяє самоочищенню водойм відстоювання забруднених вод і осідання на дно нерозчинних осадів, сорбція забруднюючих речовин зваженими частинками і донними відкладеннями. Для летких речовин важливим процесом є випаровування.

Серед хімічних чинників самоочищення водойм головну роль відіграє окиснення органічних і неорганічних речовин [50]. Окиснення відбувається в воді за рахунок розчиненого в ній кисню, тому чим вище його вміст, тим швидше і краще протікає процес мінералізації органічних залишків і самоочищення водойми від сполук азоту [51].

Процеси біохімічного окиснення неорганічних азотвмісних сполук – мікробіологічна нітрифікація, є головним процесом самоочищення водойм від сполук азоту [52, 53]. Енергія, що виділяється при окисненні аміаку і нітритів бактеріями-нітрифікаторами, використовується ними для асиміляції діоксиду

вуглецю і синтезу органічної речовини. У водних екосистемах, які багаті на розчинений кисень, іони NH_4^+ піддаються швидкому окисненню шляхом нітрифікації.

Перехід катіона в аніон веде до підкислення вод і тим самим до підвищення розчинності мінералів (солей калію, магнію, кальцію і фосфорної кислоти). При сильному забрудненні водойми запаси розчиненого кисню швидко витрачаються, а накопичення його за рахунок фізичних процесів газообміну з атмосферою протікає повільно, через що самоочищення може сповільнюватись.

У сучасному уявленні самоочищення води забезпечується головним чином сукупною діяльністю організмів, які населяють водні джерела: мікрководоростей, бактерій, архей, вищих водних рослин та ін. [54].

1.3 Використання екологічних властивостей азоттрансформуючих мікробіоценозів в біотехнологіях очистки промислових та міських стічних вод від сполук азоту

1.3.1 Екобіотехнології очищення стічних вод

Здатність мікроорганізмів перетворювати безліч речовин в ґрунті і водоймах, переводячи хімічні елементи з одного фізичного стану в інший, брати участь в формуванні та руйнуванні родовищ корисних копалин, формуванні складу атмосфери та інші процеси широко застосовуються в різноманітних біотехнологіях, в тому числі екологічних.

В біотехнологіях екологічні чинники розвитку певних біоценозів використовуються як керуючі дії – технологічні параметри. Екобіотехнологія – напрямок науки і прикладної біотехнології, що вивчає теоретичні і практичні аспекти використання живих організмів в природоохоронних цілях. Одним з найбільш важливих напрямків екобіотехнології – є очищення навколишнього середовища від забруднень природного і техногенного походження за допомогою біологічних об'єктів (біоремедіація) [55, 56].

У процесах біологічного очищення бере участь складна біологічна асоціація, що складається не тільки з бактерій, але і одноклітинних еукаріотичних організмів – грибів, найпростіших (амеби, джгутикові і вільчасті інфузорії), мікроскопічних тварин (коловертки, нематоди, водні кліщі) і ін. Ця складна асоціація в процесі біологічного очищення формується у вигляді активного мулу або біоплівки – слизового обростання матеріалу фільтруючого шару очисних споруд живими мікроорганізмами товщиною 1 – 3 мм. Мікроорганізми, які прикріплені до твердого носія, разом з ним утворюють зооглею – симбіоз популяцій мікроорганізмів, пов'язаних трофічними зв'язками і покритих загальною слизовою оболонкою.

Однією з найактуальніших задач сучасних технологій біологічної очистки стічних вод як в Україні, так і за кордоном є глибоке видалення біогенних елементів – азоту та фосфору, для захисту природних водойм від евтрофікації.

1.3.2 Процеси біохімічної деструкції сполук азоту при очищенні міських стічних вод і екологія азоттрансформуючих мікробіоценозів в очисних спорудах

Азот, що надходить зі стічними водами на очисні споруди, представлений в основному у вигляді мінеральної (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) і органічної складових (білки тканин організмів, пептидів, поліпептидів, амінів, амідів, амінокислот і їх похідних) [31]. У вигляді аміаку або сечовини в побутових стічних водах присутні 80 – 90% всіх азотовмісних речовин.

В анаеробних умовах при русі стічних вод по каналізаційній мережі відбуваються процеси амоніфікації. Цьому процесу перешкоджають низька температура (менше 10 °С) [57], кислий рН, недостатній час перебування стічних вод в системі.

При біологічному очищенні стічних вод в аеробних умовах значна кількість амонію асимілюється мікроорганізмами активного мулу з утворенням мікробної біомаси. Вміст азоту в білках бактеріальних клітин складає близько

16%. Паралельно відбуваються процеси лізису і самоокислення клітин бактерій, в результаті чого органічний азот клітин мікроорганізмів переходить в амонійний азот (амоніфікується) [31, 58, 59].

Аміак, не використаний для клітинного росту в процесі очищення стічних вод, видаляється в першу чергу завдяки процесу нітрифікації [32]. Процес нітрифікації здійснюється в результаті життєдіяльності і функціональної активності нітрифікуючих бактерій.

Нітрифікація – складний багатоступінчастий процес, описаний в підрозділі 1.2. Для мікробного окислення 1 мг амонійного азоту до нітритів потрібно 3,42 мг O_2 ; для окислення 1 мг азоту нітритів до нітратів використовується 1,14 мг O_2 . Оскільки процеси біоокиснення аміаку до нітритів та окиснення нітритів до нітратів є енергозатратним процесом для нітрифікуючих бактерій, характерний невисокий приріст біомаси [60]. Азотна кислота у вигляді нітратів є кінцевим продуктом окиснення білкових речовин і продуктів їх обміну. Отже, за кількістю нітратів судять про успішність і повноту процесу біохімічного окиснення забруднень стічної води.

Присутність в середовищі органічних сполук лімітує розвиток нітрифікуючих мікроорганізмів, тому нітрифікація амонійного азоту починається в біологічних очисних спорудах тільки після майже повного окиснення вуглецьмістких сполук (БСК). Особливо чутливі нітрифікатори до ксенобіотиків (пестицидів, гербіцидів) і токсикантів (ціанідів, фенолу, аніліну, цинку, міді, нікелю, ртуті, хрому). Практично всі важкі метали пригнічують нітрифікацію. Найбільш сприятлива реакція середовища для нітрифікаторів, що забезпечують першу стадію нітрифікації, знаходиться в інтервалі рН 7,2 – 8,6, особливо чутливі вони до зрушення рН в кислий бік.

Процеси нітрифікації залежать від температури під час очищення стічних вод [61]. За температурою $+9\text{ }^{\circ}\text{C}$ знижується швидкість нітрифікації ($8\text{ }^{\circ}\text{C}$ – мінімально допустима); за температурою $+6\text{ }^{\circ}\text{C}$ процес припиняється повністю. За інших, сприятливих для нітрифікації умовах, в зимовий час її активність знижується на 10%. За температурою понад $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ швидкість нітрифікації

також знижується у зв'язку зі зменшенням вмісту в воді розчиненого кисню. Оптимальними показниками для нітрифікації є діапазон температур від (15 до 35) °С. Нітрифікація – досить повільний процес, який ще більше сповільнюється і пригнічується при нестачі розчиненого кисню в муловій суміші. Мінімально необхідний вміст розчиненого кисню для забезпечення початкової стадії нітрифікації повинна перевищувати 1 мг/дм³.

Друга стадія нітрифікації – утворення нітратів починається по завершенні першої стадії, оскільки надлишок аміаку гальмує розвиток збудників другої фази нітрифікації. Швидкості росту бактерій роду *Nitrobacter* значно більші, ніж бактерій роду *Nitrosomonas*. Бактерії другої стадії ще більш чутливі до несприятливих умов середовища: вмісту розчиненого кисню, рН. У кислому середовищі ці бактерії не розвиваються, тому що недисоційовані молекули азотної кислоти для них є отруйними. У лужному середовищі на них негативно впливає недисоційовані іони амонію. З цієї причини бактерії другій стадії нітрифікації функціонують у вузьких межах нейтральних значень рН 7,0 – 7,6. Бактерії, які продукують нітрати, більш вимогливі до вмісту розчиненого кисню (при його вмісті 3,5 мг/дм³ нітрифікація на другій стадії досягає максимальних значень) [62].

Однак бактерії другій стадії нітрифікації менш чутливі до токсикантів і відновлюються набагато швидше, ніж бактерії, що забезпечують першу стадію. Інтенсивність нітрифікації прямо пропорційна чисельності нітрифікуючих бактерій. При однаковій температурі швидкість зростання бактерій роду *Nitrobacter* приблизно на 50% більша, ніж у *Nitrosomonas* [62].

Швидкість зростання нітрифікуючих бактерій, у порівнянні зі звичайною гетеротрофною мікрофлорою активного мулу, невисока. Тому, для того, щоб накопичити їх робочу концентрацію потрібно підтримувати високий вік мулу (більше 4 – 5 діб). Забезпечення віку мулу понад 8-м діб дозволяє закріпити бактерії-нітрифікатори на поверхні твердого інертного носія [63].

Оптимальні фактори розвитку нітрифікуючих бактерій на очисних спорудах залежать від величини рН; температури очищення води; вмісту у

стічних водах органічних речовин, які легко розчинюються і окиснюються; вмісту амонійного азоту і білкових сполук в стічних водах; складу стічних вод (відносний вміст промислових скидів, присутність в них токсичних речовин); величини навантаження на активний мул, віку мулу і чисельності нітрифікуючих бактерій; періоду аерації в аеротенках та відсотку регенерації активного мулу [64].

Апаттох-бактерії характеризуються чутливістю до широкого спектру зовнішніх факторів (температура, кислотність середовища, концентрація розчиненого кисню, фосфатів, сульфідів, органічної речовини і солей, а також субстратів і продуктів апаттох-процесу, високі концентрації яких чинять інгібуючий вплив).

Екологія денітрифікуючих мікробіоценозів в біологічних очисних спорудах досліджувалась багатьма вітчизняними та закордонними науковцями. Встановлено, що в лужному середовищі і при вільному доступі кисню відновлювальний процес не йде, в кислому середовищі і при утрудненому доступі кисню відновлення йде до аміаку [65]. Як відомо, у процесі дисиміляційної денітрифікації нітрат послідовно відновлюється протонами, які знімаються з органічних субстратів, через нітрит до газоподібних N_2O і N_2 . Причому редуктази оксиду азоту та редуктази закису азоту значно чутливі до присутності кисню, ніж нітратредуктази та нітритредуктази. Тому присутність кисню може привести до накопичення в процесі денітрифікації стічних вод екологічно небезпечних продуктів – оксидів азоту. До токсичної дії полютантів денітрифікатори менш чутливі, ніж нітрифікатори.

Для відновлення 1 г азоту нітратів в процесах очищення стічних вод потрібно більш ніж 2,85 г органічних речовин за ХСК. Допустима температура від 5 до 50 °С, оптимальна – 10 – 35 °С. Діапазон рН 6,0 - 9,0, а найвищих значень ефективність денітрифікації досягає при рН 7,0 – 7,5 [46].

Процес одночасної нітрифікації-денітрифікації постійно присутній на всіх спорудах, які забезпечують глибоку нітрифікацію, оскільки завжди є анаеробні зони на різних ділянках біологічної очистки. Поєднанням процесів нітрифікації

і денітрифікації можна знижувати вміст неорганічного азоту на 90% і загального азоту на 80 – 95% [66].

На сьогодні загальноприйнятим методом очищення стічних вод від сполук азоту є біологічне очищення методом нітрифікації-денітрифікації, між збудниками яких існують відносини типу коменсалізм. Оскільки нітрифікуючі мікроорганізми забезпечують денітрифікуючих субстратом для енергетичного обміну. Процеси нітри-денітрифікації стічних вод проводять у одно-, двох- та трьох стадійних технологічних схемах [67]. Слід відзначити суттєву перевагу методу нітри-денітрифікації з екологічної точки зору. Внаслідок проведення такої очистки азот видаляється у вигляді екологічно безпечної сполуки – газоподібного азоту (N_2) в атмосферне повітря [68].

Наразі дослідженнями останніх років склад нітрифікуючих мікроорганізмів суттєво розширений [69]. Нітрифікуючі мікроорганізми включають як амонійокиснюючі бактерії, так і археї й «повні окиснювачі NH_3 » (comptox) бактерії [70]. Наразі біологічна очистка стічних вод від сполук азоту за допомогою апаттох-бактерії має великі перспективи щодо заміщення процесів нітри-денітрифікації через значно вищі економічні показники.

Склад мікроорганізмів, які беруть участь у перетворенні сполук азоту у різних метаболічних реакціях, а, отже можуть розвиватись в мікробіоценозах біологічних очисних споруд, надані у табл.1.1 [29, 32, 34, 43, 60, 71].

Як видно з даних табл. 1.1 нітрифікуючі мікроорганізми здійснюють очистку стічних вод від амонійного азоту (деамонізацію), денітрифікуючі мікроорганізми – очистку стічних вод від сполук азоту з видаленням його з рідкої фази в газоподібну (деазотацію), а апаттох-бактерії – деамонізацію з деазотацією.

Таблиця 1.1 – Склад мікроорганізмів очисних споруд, які беруть участь в перетворенні різних форм азоту

Процес (реакція)	Мікроорганізми	Продукти реакції
------------------	----------------	------------------

<p>Амоніфікація: Дезамінування амінокислот: $R-CHNH_2-COOH + 1/2O_2 \rightarrow R-CO-COOH + NH_3$ Гідроліз сечовини: $(NH_2)_2CO + 3H_2O \rightarrow CO_2 + 2NH_4^+ + OH^-$</p>	<p><i>Micrococcus, Arthrobacter, Pseudomonas, Proteus, Clostridium putrificum</i></p> <p><i>Bacillus, Sporosarcina pasteurii</i></p>	<p>Аміак, сірководень, вуглекислота</p>
<p>Нітрифікація 1-ша фаза $2NH_4^+ + 3O_2 \rightarrow 4H^+ + 2NO_2^- + 2H_2O$</p>	<p><i>Nitrosomonas, Nitrocystis, Nitrospira, Nitrosococcus, Nitrosolobus, Nitrosovibrio</i></p>	<p>Нітрити</p>
<p>Нітрифікація 2-га фаза $2NO_2^- + O_2 \rightarrow 2NO_3^-$</p>	<p><i>Nitrobacter, Nitrospina, Nitrococcus Nitrocystis, Nitrospira</i></p>	<p>Нітрати</p>
<p>Денітрифікація $C_xH_yO_z + NO_3^- \rightarrow CO_2 + NO_2^- + H_2O$ $C_xH_yO_z + NO_2^- \rightarrow CO_2 + OH^- + H_2O + N_2 \uparrow$</p>	<p><i>Pseudomonas denitrificans, Thiobacillus denitrificans, Pseudomonas fluorescens, Ps.aeruginosa, Nitrococcus</i></p>	<p>Вільний азот</p>
<p>ANAMMOX-процес $2NH_4 + 1,5O_2 = NH_4^+ + NO_2^- + H_2O + 2H^+$ (часткова нітрифікація), $NH_4^+ + NO_2^- = N_2 \uparrow + 2H_2O$ (власне анаммох), $2NH_4 + 1,5O_2 = N_2 \uparrow + 3H_2O + 2H^+$ (сумарно)</p>	<p><i>Planctomycetales, Candidatus Brocardia anammoxidans, Candidatus Kuenenia stuttgartiensis, Candidatus Anammox globus</i></p>	<p>Вільний азот</p>
<p>COMMAMOX-процес $2NH_4^+ + 4O_2 \rightarrow 4H^+ + 2NO_3^- + 2H_2O$</p>	<p>три види <i>Nitrospira</i></p>	<p>Нітрати</p>

1.3.3 Процеси біохімічної деструкції сполук азоту при біологічному очищенні промислових стічних вод

Склад виробничих стічних вод залежить не тільки від типу виробництва, а і від технології, яка застосовується на конкретному підприємстві.

Концентрації забруднень в промислових стічних водах можуть значно перевищувати такі в міських стічних водах, а співвідношення між ними (важливі екологічні чинники життєдіяльності активного мулу) – суттєво відрізнятись. Тому загалом процеси очистки промислових стічних вод можуть включати хімічні і фізико-хімічні методи, які зазвичай не використовують при обробці міських стічних вод, у зв'язку з ускладненням технологічної схеми, подовженню терміну обробки та ін.

Традиційно видалення азоту із промислових стічних вод відбувається в результаті біологічного окиснення амонійного азоту до нітритів і потім окиснення нітритів до нітратів (процеси нітрифікації) з подальшою денітрифікацією, тобто відновленням нітритів і нітратів до газоподібного азоту.

Для реалізації таких технологій на даний час закордонними і вітчизняними фахівцями розроблено більше 10 різновидів технологічних схем для перебігу процесів нітри-денітрифікації, які можуть бути систематизовані за різними параметрами:

- за кількістю мулових систем в процесі: одномулові та двомулові;
- за кількістю ступенів чергування зон аерації та перемішування: одноступенева, двоступенева і циркуляційний режим роботи аеротенків;
- за типом використовуваного субстрату для денітрифікації: з використанням додаткового джерела субстрату і без введення додаткового субстрату з використанням органічних речовин вихідної стічної води;
- за режимом роботи: проточна схема і схема з періодичним режимом роботи, при якому в одній зоні чергуються аеробні і анаеробні умови [72].

1.4 Використання різних азотперетворюючих мікробіоценозів у сучасних інноваційних технологіях видалення сполук азоту зі стічних вод

Останнім часом розроблено ряд технологій, які спрямовані на створення оптимальних екологічних умов для метаболізму специфічних мікробіоценозів-деструкторів сполук азоту [60, 73 – 76].

До таких технологій відносяться: нітрифікація, денітрифікація, одночасна нітрифікація та денітрифікація (SND), одnoreакторна система для видалення високоактивного амонію над нітритом (SHARON) та анаеробне окислення амонію (Anammox) [71, 77, 78], які узагальнено в таблиці 1.2. Серед згаданих процесів лише SND і Anammox здатні здійснити майже повне видалення $\text{NH}_4\text{-N}$, не утворюючи інших токсичних форм азоту, таких як нітрити і нітрати (деамонізацію з деазотацією).

Таблиця 1.2 – Процеси біологічного видалення азоту

Процеси	Основна реакція	Необхідні кисневі умови
Нітрифікація	$\text{NH}_4\text{-N} + \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2\text{-N} \rightarrow \text{NO}_3\text{-N}$	Аеробні
Денітрифікація	$\text{NO}_3\text{-N} \rightarrow \text{N}_2$	Анаеробні
SND	$\text{NH}_4\text{-N} + \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3\text{-N} \rightarrow \text{N}_2$	Аеробні та анаеробні
SHARON	$\text{NH}_4\text{-N} + \text{O}_2 \rightarrow 0.5\text{NH}_4\text{-N} + 0.5\text{NO}_2\text{-N}$	Аеробні (при низьких концентраціях O_2)
Anammox	$\text{NH}_4\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} \rightarrow \text{N}_2$	Анаеробні

- Анаеробне окислення амонію (ANAMMOX) [60, 79, 80]. До переваг цього методу відносяться зниження енергетичних витрат на проведення процесу в порівнянні з традиційним процесом нітрифікації-денітрифікації на 60 – 90%, також відсутність додаткового джерела вуглецю; зниження рівню утворення вуглекислого газу до 90%; зменшення кількості зворотного надлишкового мулу [79]. До недоліків можна віднести тривалість накопичення активної біомаси, необхідність запуску біотенків до періоду активної експлуатації.

- Нітрифікація-денітрифікація (SHARON) [60, 62, 73] – технологія, яка не потребує рециркуляції мулу. До недоліків відноситься необхідність підтримки високих температур $> 26 \text{ }^\circ\text{C}$; необхідність у додатковому вуглецевому субстраті (метанол).

- Часткова нітрифікація спільно з анаеробним окисненням амонію в двох розрізнених реакторах (SHARON — ANAMMOX) [60, 62, 81] – Технологія не вимагає додаткового вуглецевого субстрату. Високий ступінь видалення азоту, але потрібні значні територіальні та енергетичні витрати для розміщення реакторів і їх обслуговування.

- Нітрифікація-денітрифікація з лімітованою аерацією (OLAND) [60, 62]. Переваги: можливе застосування в оборотному реакторі або в умовах мембранного біофільтра. Недоліки: присутній процес відновлення нітратів.

- Часткова нітрифікація спільно з анаеробним окисненням амонію (CANON) [60, 80, 82, 83]. Переваги: за рахунок утворення спільної культури ANAMMOX бактерій і аеробних бактерій досягається високий ступінь видалення азоту в одному реакторі. Недоліки: необхідність аерації стоку і контроль вмісту розчиненого кисню.

- Денітрифікація з використанням метану, як електрон-донору (N-DAMO) [82]. Переваги: дану технологію можна використовувати спільно з анаеробним окисненням амонію при очищенні стоків, які містять велику кількість амонійних солей і розчиненого метану. Недоліки: висока пожежота вибухонебезпечність.

- Стимуляція нітрифікації (BABE) [75, 84]. Переваги: можливе досягнення повної нітрифікації у разі незначного перебування активного мулу. Недоліки: процес вимагає наявності реактору для культивування нітрифікуючи бактерій, в якому необхідно підтримувати високу температуру.

- Поєднання денітрифікації та анаеробного окиснення амонію (DEAMOX). Переваги: дозволяє очищати стічні води з високою концентрацією азотних сполук і органічних речовин, незначні економічні витрати за відсутності процесу аерації [75, 84 – 87].

- Поєднання часткової нітрифікації, анаеробного окислення амонію і денітрифікації (SNAD). Переваги: дозволяє очищати стічні води з високою концентрацією азотних сполук [84, 87, 88].

- Нітрифікація-денітрифікація в мікробних паливних елементах [89]. Дана технологія дозволяє використовувати подвійний аеробний і анаеробний катод, що дозволяє виробляти електроенергію. Недоліки: значні фінансові витрати на експлуатацію катода.

- Нітрифікація в мембранних біореакторах [90]. Дозволяє здійснювати повну нітрифікацію за умови навіть низьких температур. Дана технологія також дозволяє підвищити вік мулу до 15 діб. Дозволяє очищати стічні води в умовах повторного рециклу. Недоліки: вимагає підвищених капітальних витрат на експлуатацію мембран.

Деяка частина кисню, яка була витрачена на нітрифікацію, може бути відновлена якщо у схему очищення в початок аеротенків впровадити аноксидні зони з метою денітрифікації зворотного активного мулу. Таке проектування забезпечує додаткове повернення кисневого еквіваленту під час процесу денітрифікації, при цьому досягається повне видалення азоту та вдається відновити біля 20% енергії.

Необхідно підкреслити, що мікробіологічна деамонізація стічних вод, яка зумовлена життєдіяльністю автотрофних мікроорганізмів, ускладнюється присутністю в міських та в абсолютній більшості промислових стічних вод високих і надвисоких концентрацій органічних сполук. Інша проблема деазотуючих мікробіоценозів – необхідність поєднувати в одному мікробіоценозі високоактивні мікробіологічні процеси, що потребують діаметрально протилежних кисневих режимів. Ці проблеми успішно долає іммобілізація мікробіоценозів.

1.5 Іммобілізація азотперетворюючих мікробіоценозів як екологічний чинник інтенсифікації очистки стічних вод від сполук азоту

В кінці ХХ століття в багатьох біотехнологіях з великим успіхом стали застосовувати іммобілізовані, (прикріплені до різних носіїв) ферменти, органели, клітини, біоценози [91]. Основними перевагами іммобілізованих

біокаталізаторів перед незакріпленими, розчиненими або вільноплаваючими, є: висока продуктивність і швидкість біологічних трансформацій; можливість безперервного або багаторазового використання біокаталізаторів; створення високої щільності біокаталізаторів у біореакторі і низької – в рідині, що витікає з нього; отримання більш чистих кінцевих продуктів реакції; стійкість іммобілізованих біологічних систем до дії токсичних речовин і несприятливих фізико-хімічних умов. Зазначені переваги іммобілізованих біокаталізаторів сприяють швидкому розширенню сфер їх застосування в різних галузях мікробіологічної, медичної і харчової промисловості і особливо – в біотехнології очищення води і повітря [92 – 94].

Показано, що на волокнистих носіях з базальту і лавсану, тобто на відносно гладких поверхнях волокон, утримується значно менше клітин, ніж на капроні, що має гофровану структуру. Добре сорбуються клітини на насадці зі скла. Прекрасні сорбційні властивості зазначених насадок з'являються вже в першу добу вирощування [75].

Швидкість формування біоплівки на нерозчинних у воді носіях, її біохімічна активність і фізіологія залежать від багатьох чинників, але, перш за все, від [75, 76, 95 – 103]:

- виду мікроорганізму, віку і концентрації клітин в середовищі;
- від природи і форми носія, складу середовища вирощування;
- умов і тривалості культивування та ряду інших умов.

Використання іммобілізованих біокаталізаторів в очищенні води у значній мірі сприяє підвищенню стійкості системи до впливу несприятливих факторів. Момент стійкості системи особливо важливий в пусковий період роботи очисної споруди [93].

Відомі конструкції нітрифікаторів-біосорберів з нерухомою, псевдозрідженою насадкою і затоплені біофільтри. Як завантаження, в спорудах з нерухомою насадкою, пропонується використовувати клиноптилоліт, гравій, пісок та інші матеріали [93, 96, 104, 105]. У спорудах із завислим шаром застосовують завантаження в досить широкому діапазоні

величини частинок (від 0,5 до 2 мм), а також шорсткі кульки зі скла та інших матеріалів [106]. Як завантаження використовують також носії із закріпленою на них нітрифікуючою біомасою, які обертаються навколо горизонтальної осі. Для інтенсифікації процесу очищення від сполук азоту використовують завантаження рам зі склоїршамі, розташованими під кутом 80° через 150 мм [94].

В якості твердого носія для нітрифікуючих бактерій успішно використані полімерні порожнисті волокна з подачею повітря або кисню всередину цих волокон. Рекомендуються порожнисті волокна з тефлону, поліетилену і тому подібних мембран [107, 108].

Використання для нітрифікаторів носія карбонату кальцію – хімічно активного завантаження, що реагує з метаболітами мікроорганізмів, дозволяє вирішити питання підтримки оптимального рН в споруді. Клиноптилоліт є природним компонентом, здатним здійснювати іонний обмін (іон Na^+ на іон NH_4^+) [109]. Адсорбований мінералом амоній доступніший нітрифікаторам I фази, а швидкість нітрифікації II фази дещо гальмується. Мабуть, природа завантаження в певній мірі впливає на нітрифікацію, і в цьому випадку вплив на біоценоз відбувається інтенсивним шляхом. У той же час питання впливу іммобілізації на метаболізм нітрифікуючих мікроорганізмів (величину K_s напруженість метаболічних процесів), відомі по роботах в загальній мікробіології, але у дослідженнях з очищення азотовмісних стічних вод залишаються мало дослідженими [110].

Недоліком застосування анаеробно-аеробних технологій біологічного очищення стічних вод є низька концентрація біомаси бактерій, які беруть участь у трансформації сполук азоту в очисних спорудах і, відповідно, значні витрати на рециркуляцію активного мулу. Цю проблему можна вирішити з допомогою використання інертних носіїв для іммобілізації мікроорганізмів. Одним з перспективних шляхів інтенсифікації процесу нітрифікації-денітрифікації є використання прикріплених мікроорганізмів у вигляді біоплівки.

Наприклад, таку технологію очищення [111] пропонують реалізувати в біореакторах з різними кисневими умовами: анаеробними і аеробними, і за прямою схемою руху води. На кожному ступені очистки стічних вод утворюється певний біоценоз мікроорганізмів, який здатний виконувати свої функції саме в даних умовах. Для прикріплення і утримання біоценозу в усіх секціях багатоступінчастої схеми влаштовані спеціальні носії. Технологія може застосовуватися як при проектуванні нових очисних спорудах, так і при реконструкції існуючих [112].

Біосорбційна очистка стічних вод можлива з використанням мікробних агрегатів 3-х типів:

- статичних (в біофільтрах),
- у вигляді макрочасток (в реакторах з псевдозрідженим шаром),
- флокули (в активному мулі) [66].

Для прискорення процесів очищення і відтворення водних екосистем необхідно використовувати біологічні резерви не тільки мікробних спільнот і біоценозів. На цей час існують різні системи очищення стічних вод від сполук азоту з використанням прикріплених біомас [82]. Вони відрізняються один від одного принципом роботи. Так, існують біореактори з рухом води щодо нерухомого матеріалу завантаження, а також з рухом завантаження щодо води [113]. Рух води може забезпечуватися як зверху вниз, так і знизу вгору. Європейське покоління затоплених біофільтрів з багатошаровим фіксованим завантаженням успішно застосовується для 2-й і 3-й ступенів очищення [82].

Біоплівки являють собою складні асоціації мікроорганізмів, які прикріплюються до поверхні будь-якого носія [114]. Ці біоценози стратифіковані і складаються з різних видів, які знаходяться в симбіотичних відношеннях один до іншого та можуть руйнувати складні органічні і неорганічні сполуки [66]. На зовнішній поверхні біоплівок знаходяться аеробні мікроорганізми, які здійснюють реакції окиснення органічних сполук та сполук азоту. До складу глибших шарів біоплівок входять

мікроаерофільні, аноксидні та анаеробні мікроорганізми [115]. Певні види мікроорганізмів продукують органічні кислоти, певні відновлюють нітрити/нітрати, певні здійснюють апаттох і т.д. Автори [116] вважають, що для метаболічних взаємодій між собою мікроорганізми, виділяють сигнальні молекули, які забезпечують між- і внутрішньовидову комунікацію. Ці особливості мікроорганізмів, а також чинники довкілля сприяють формуванню біоплівки.

Для формування біоплівок великий вплив мають геометрія і структура поверхні. Грубі і пористі поверхні більшою мірою сприяють формуванню біоплівки. Утворення біоплівки прискорюється на гідрофобній поверхні. Полімерні носії високої щільності (полістирол, поліетилен, поліпропілен, полівінілхлорид і поліметілметакрилат) мають гарну гідрофобність і полярність поверхневого заряду, що сприяє формуванню біоплівок [117]. Але вітчизняні дослідники [112, 118] пропонують для іммобілізації використовувати капроновий носій «ВІЯ», який має ряд переваг: більшу питому поверхню для закріплення й утримання мікроорганізмів (до 5000 м² на 1м³ об'єму очисних споруд), нерозчинність у воді, високу міцність і стійкість до мікробної деструкції.

Мікроорганізми, що іммобілізовані, мають стійкість до стресу. Так, біомаса на носіях в біореакторах, звільнених від води, здатна до швидкого відновлення своєї життєдіяльності (вже в перші 3 – 7 діб) з відповідним розвитком та збільшенням чисельності нових мікроорганізмів (навіть при низьких температурах зовнішнього повітря – до -30°C) [117].

Українськими авторами [119] розроблено технологія анаеробно-аеробного очищення стічних вод від сполук азоту з використанням іммобілізованих мікроорганізмів. Дослідження проводили у біореакторах з іммобілізованими мікроорганізмами перпендикулярного руху струменів повітря відносно напрямку руху стічних вод. Така технологія позитивно впливала на ефективність процесу очищення, що забезпечує збільшення окисної потужності на 30 – 40 % на початковій стадії аеробного процесу з

ефективністю видалення азоту 98,4 – 99,6 % при гідравлічному навантаженні 5,5 – 5,8 м³/(м³·доб) у порівнянні із поздовжнім розміщенням аераторів при таких же умовах очищення, що дозволяє знизити об'єми споруд. Тривалість очищення при цьому складала 20 – 22 год; тривалість на кожній стадії – 4,0 – 4,4 год; навантаження за амонійним азотом в аеробних біореакторах – 8 – 20 мг/(г·доб); швидкість окиснення за амонійним азотом – 4 – 12 мг/(г·доб), при початкових концентраціях амонійного азоту на аеробній стадії 11 – 32 мг/дм³. В результаті дослідження, іммобілізованої на волокнистому носії, біоплівки за допомогою оптичного мікроскопіювання було встановлено, що при використанні запропонованої технології забезпечується створення біоценозу гідробіонтів в анаеробних і аеробних умовах на різних стадіях очищення, які здійснюють не тільки очищення стічних вод від сполук азоту, а і зменшення концентрації надлишкової біомаси до 50 – 70 г/м³.

Біоценоз біореакторів з іммобілізованими на носіях мікроорганізмами спроможний до періодичної роботи та зберігає здатність до очищення стічних вод навіть при досить низьких зимових температурах (-30 – -32) °С. Одержано високі значення окисної потужності за амонійним азотом – 80 – 110 г/(м³·доб) за рахунок створення послідовних анаеробно-аеробних умов при розміщенні носія «ВІЯ» з питомою масою волокон 500 – 600 г/м³ [119].

Таким чином, як показує практика, одною з основних перешкод в широкому використанні анаеробно-аеробних технологій біологічного очищення стічних вод є низька концентрація біомаси в споруді і значні витрати на рециркуляцію активного мулу і стічних вод. Отже цю проблему дозволяє вирішити іммобілізація мікроорганізмів на інертних носіях.

Дослідження іммобілізованих азотперетворюючих біоценозів в біодискових установках дуже обмежені, особливості впливу екологічних чинників на ці мікробіоценози і параметри обробки стічних вод сформованим консорціумом мікроорганізмів на інертному носії малодосліджені.

Також особливості перетворення сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом на дисках в контактних та проточних умовах вкрай обмежені та маловисвітлені в літературних наукових джерелах.

1.6 Вибір напряму дисертаційного дослідження

Аналіз даних науково-технічної літератури показав, що мікроорганізми певних видів здійснюють в масштабі біосфери ряд перетворень (в тому числі унікальних) сполук азоту, зумовлюючи його біогеохімічний кругообіг. На екологічних властивостях цих азоттрансформуючих мікробіоценозів базуються технології біологічної очистки стічних вод від азотвмісних сполук (деамонізації та деазотації). За останні роки інформація щодо мікробіологічних ланок кругообігу азоту суттєво розширилась, що потребує певних інноваційних рішень для систем очистки стічних вод, в тому числі таких перспективних як біосорбційних. Проте, методологія визначення складу іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу простими, недорогими та доступними методами майже не розроблена, дані щодо екології таких мікробіоценозів (мікробного складу, трофічних та просторових відносин, впливу екологічних чинників) обмежені. Бракує також відомостей (і практичних знань) про вплив екологічних чинників в біодисковій установці на ефективність деамонізації та деазотації висококонцентрованих за органічними сполуками та мінералізованих промислових стічних вод.

Метою дисертаційної роботи є використання екологічних властивостей іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозів для глибокого, екологічно безпечного, енергозаощадливого видалення сполук азоту зі стічних вод для захисту об'єктів гідросфери від евтрофікації.

Для досягнення мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Встановити за даними науково-технічної літератури склад азоттрансформуючих мікробіоценозів, вплив на них екологічних чинників,

взаємовідносини різних видів та використання в технологіях очистки стічних вод.

2. Розробити конструкцію та виготовити лабораторні біодискові установки, які працюють в контактному та проточному режимах роботи, наростити іммобілізовану біомасу та розробити методологію визначення складу іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу.

3. Експериментально (за мікробіологічними, фізіологічними та біохімічними показниками) встановити еколого-трофічні групи мікроорганізмів, що входять в азоттрансформуючий мікробіоценоз лабораторної установки, трофічні та просторові відносини між цими групами, вплив на їх активність екологічних чинників (органічних речовин і концентрації NH_4^+).

4. Експериментально визначити показники впливу екологічних чинників (концентрації органічних речовин, концентрації N-NH_4 , температури, концентрації розчиненого кисню) на очистку висококонцентрованих (за органічними сполуками) промислових стічних вод від сполук азоту та супутніх забруднень іммобілізованим мікробіоценозом в біодисковій установці.

5. Експериментально визначити показники впливу екологічних чинників (концентрації NH_4^+ , температури, концентрації розчинного кисню) на очистку мінералізованих модельних стічних вод від сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом в біодисковій установці.

6. В виробничих умовах провести апробацію ефективності видалення сполук азоту (деазотації) з реальних стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом при обробці в біодисковій установці.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Об'єкти експериментальних досліджень

Об'єктом експериментальних досліджень були екологічні характеристики азоттрансформуючого мікробіоценозу, іммобілізованого на плоскому інертному носії, для видалення сполук азоту зі стічних вод різного складу.

2.1.1 Формування іммобілізованої на інертних носіях біоплівки мікроорганізмів-деструкторів для очищення стічних від органічних сполук та сполук азоту в виробничих умовах

Для отримання іммобілізованих мікробіоценозів використовували природну здатність мікроорганізмів закріплюватися на твердій поверхні носія. Для цього диски, виготовлені з полікарбонату, і конструкції з фільтруючого мату в металевих дірчастих кошиках занурювали в мулову рідину аеротенка-витіснювача міських очисних споруд і залишали таку конструкцію на 6 – 8 тижнів. Протягом цього часу контролювали процес формування біоплівки мікроорганізмів на носії.

Конструкцію з полікарбонату занурювали в початок аеротенка-витіснювача, а конструкцію з фільтруючих матів – в кінець аеротенків. Таке просторове розміщення носіїв для іммобілізації було потрібно для формування специфічних біоценозів [120]. На вході в аеротенк стічна вода, що надходить на очистку, містить значну концентрацію органічних речовин, які є живильним субстратом для сапрофітних гетеротрофних мікроорганізмів (політрофів). Тому на полікарбонатних дисках відбувалось пріоритетне формування біоценозу-деструктора саме органічних сполук.

Конструкцію з фільтруючих матів розміщували в кінці аеротенку, де в очищеній воді міститься значно менше органічних речовин, але з'являються сполуки мінерального азоту. Таке середовище сприяє активації оліготрофних та

хемолітоавтотрофних мікроорганізмів, що окиснюють сполуки азоту в аеробних та мікроаерофільних умовах при мінімальних концентраціях органічних сполук, або ж їх відсутності. Для ефективного формування біоплівки з анаеробних та аноксидних бактерій застосовували конструкцію носія – фільтруючий мат з поліетилену високого тиску. Цей вид носія завдяки своїй структурі володіє великою поверхнею для закріплення хемоавтотрофної мікрофлори. Причому на поверхні, що контактує з поживним субстратом (стічною водою), в аеробних умовах формується біоплівка, здатна до окислення амонійного азоту до нітритів і нітритів до нітратів, а всередині конструкції утворюються аноксидні зони, що сприяють розвитку анаеробних гетеротрофних мікроорганізмів і хемоавтотрофних бактерій апаттох-комплексу, які здійснюють анаеробне окислення амонію. Мікроорганізми активного мулу, що знаходяться в аеротенках в завислому шарі, за рахунок природних сил адгезії, активно адсорбуються на поверхню дисків. Шляхом іонних і ковалентних взаємодій матеріалу носія з клітинами вільноплаваючого активного мулу відбувається формування міцних хімічних зв'язків (хемосорбція) між клітинами і матеріалом носіїв, в наслідок чого і формуються біоплівки [121].

Після експозиції в аеротенку носії з біоплівкою, що сформувалася, виймали і переміщали в експериментальний біореактор. У закріпленому стані на поверхні носія була сформована дуже стійка до несприятливих умов біоплівка. Носій з біоплівкою може перебувати досить тривалий час поза реактора у сухому стані без надходження поживних речовин. Частина мікроорганізмів біоплівки відмирає, але частина мікроорганізмів переходить в стан аналогічного анабіозу і досить швидко відновлює свою активність при поновленні сприятливих умов їх життєдіяльності [122]. Про це свідчила позитивна динаміка параметрів якості води, що очищували.

При зазначеному способі формування біоплівки в виробничих умовах відбувалось постійне контактування активного мулу з носієм, що забезпечувало

більш швидко завершення процесу адсорбції і більш рівномірне заповнення поверхні адсорбенту клітинами.

2.1.2 Формування біоплівки азоттрансформуючих мікроорганізмів, збагаченої апаттох-бактеріями, в лабораторних умовах

Імобілізовані мікробіоценози, збагачені біомасою апаттох-бактерій, здатних перетворювати амонійний азот в молекулярний, отримували в лабораторних умовах. Використовували 2 варіанти такого мікробіоценозу: перший – іммобілізований на фільтруючих матах, другий – іммобілізований на дисках лабораторної установки.

Для першого варіанта носія, в лабораторну колбу об'ємом 2 дм³ в якості інокуляту вносили активний мул з міських очисних споруд (Безлюдівські БОС) в концентрації 6 – 8 г/дм³ і додавали рідке поживне середовище для накопичування бактерій апаттох-комплексу, рекомендоване П.І. Гвоздяком. Склад цього середовища (в мг/дм³ водопровідної води): NH₄Cl – 400; NaNO₂ – 500; NaHCO₃ – 1000; KH₂PO₄ – 450; K₂HPO₄ – 500. Співвідношення між мінеральними формами азоту (амонійного і нітритного) в середовищі становило 1:1,15). Адаптування мікроорганізмів активного мулу до мінеральних компонентів субстрату проводили протягом 6 місяців при сталій температурі 20 °С, періодично додаючи свіжі порції модельного розчину (табл. 2.1).

Як свідчать дані табл. 2.1, спочатку процесу спостерігалось відмирання гетеротрофних мікроорганізмів активного мулу і збільшення в середовищі концентрації амонійного азоту внаслідок мінералізації відмерлої біомаси. Але поступово сформувався біоценоз, який в аноксидних умовах (концентрація кисню ~ 1 мг/дм³) швидко окиснював амоній, концентрація якого зменшувалась, при цьому нітритний і нітратний азот в середовищі не виявлялись. За декілька тижнів спостерігалися візуальні зміни кольору біомаси (він став значно світліше), а її седиментаційні властивості погіршились. Це можна пояснити зміною складу біоценозу. В умовах відсутності органічних сполук і обмеженого надходження кисню переваги для розвитку одержали

хемоавтотрофні мікроорганізми, які використовували енергію окиснення амонію і нітритів.

Таблиця 2.1 – Контроль динаміки трансформування сполук азоту при виділенні та адаптації аноксидних бактерій в лабораторних умовах

Дата проведення дослідження	Найменування показників, мг/дм ³		
	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
18/01/18	98,2	291,7	7,8
19/01/18	116,0	226,7	19,03
22/01/18	145,9	178,6	23,61
23/01/18	86,7	98,5	25,0
26/01/18	37,11	58,7	29,33
30/01/18	1,72	<0,03	44,71

При багаторазовому порційному внесенні субстрату, амонію і нітриту, протягом 60 – 120 діб сформувався біоценоз, який був здатний окиснювати амонійний азот сполуками нітритів до молекулярного азоту. Сформований біоценоз представляв собою флокули світло-коричневого кольору. На цій стадії в суспензію отриманого біоценозу вносили носій (фільтруючі мати) для іммобілізації азоттрансформуючого мікробіоценозу.

Недоліком такого способу формування біоплівки є необхідність тривалого періоду для накопичення біомаси бактерій апаттох-комплексу. До того ж реалізація способу передбачає безперервну підтримку суспензії клітин і адсорбенту в диспергованому стані, що забезпечує більш швидке завершення процесу адсорбції і більш рівномірне заповнення поверхні адсорбенту клітинами.

Фільтруючі мати з іммобілізованою біоплівкою, переносились у лабораторний біореактор через який у замкнутому режимі пропускали рідке живильне середовище для накопичення бактерій апаттох-комплексу

(збагачене азотом амонійним і нітратним в співвідношенні 1:(1-1,15), склад якого наведено вище.

Для другого варіанту носія проводили адаптацію іммобілізованого на дисках лабораторної установки мікробіоценоза, сформованого при обробці стічних вод з високим вмістом органічних забруднень. Для цього установку переводили на обробку в проточному режимі живильного середовища для накопичення бактерій апаттох-комплексу, склад якого наведено вище. При цьому протягом п'яти – семи діб відбувалось відмирання та десорбція клітин гетеротрофних мікроорганізмів через відсутність в живильному середовищі органічних речовин, як джерела живлення. Цей процес спричиня збільшення концентрації амонійного азоту (за рахунок амоніфікації) в середовищі. Шар нової біоплівки ставав тоншим і набував рожево-коричневого кольору. Такі зміни можна пояснити зміною складу іммобілізованого біоценоза. Поступово в результаті життєдіяльності мікроорганізмів оновленої біоплівки концентрація амонійного азоту зменшувалась і баланс сполук азоту свідчив про утворення молекулярного азоту.

2.2 Методи дослідження екології азоттрансформуючого мікробіоценозу

2.2.1 Методи дослідження складу азоттрансформуючого мікробіоценозу

Методи мікробіологічних досліджень

Для визначення основних таксономічних груп іммобілізованих мікробіоценозів, які трансформували забруднення модельних стічних вод, проводили бактеріологічні дослідження біомаси. Для ідентифікації еколого-трофічних груп в складі іммобілізованого мікробіоценозу маркери виймали з біореактора, біомасу з них знімали і аналізували щодо наявності гетеротрофних мікроорганізмів (сапрофітів, амоніфікаторів, денітрифікаторів) і автотрофних мікроорганізмів (амоніфікаторів, нітрифікаторів і апаттох-бактерій).

Концентрацію бактерій визначали мікробіологічними методами при посіві зразків біоплівки на тверде або рідке елективне середовище [123]:

- поживний агар (МПА) – для визначення концентрації сапрофітів, КУО/см³;
- МПБ (рідке) – для визначення концентрації амоніфікаторів, кл./см³;
- середовище Виноградського (рідке) – для визначення концентрації нітрифікаторів I фази, кл./см³;
- середовище Гільтая (рідке) – для визначення концентрації денітрифікаторів, кл./см³;
- елективне середовище для мікроорганізмів комплексу апаттох.

Для визначення концентрації бактерій, з додержанням стерильних умов, знімали по 0,5 г біомаси з кожного маркера, розмішували у 10 см³ стерильної води та готували децимальні розбавлення, з яких проводили посів суспензії в рідкі (1 см³ розбавлення) та на тверді (0,1 см³ розбавлення) поживні середовища. При посіві в рідкі середовища для обліку застосовували не менше 3-х повторюваностей в кожному розведенні (метод граничних розведень).

Умови культивування засіяних живильних середовищ для:

- гетеротрофів – 24 год при температурі 37°C;
- амоніфікаторів і нітрифікаторів – 7 діб при температурі 28°C;
- денітрифікаторів – 7 діб при температурі 28°C;
- бактерій комплексу апаттох – 2 тижня при температурі 28°C.

Після культивування визначали присутність мікроорганізмів, за ознаками:

- для гетеротрофів – за наявністю колоній на поживному середовищі;
- для амоніфікаторів – за наявністю в середовищі іонів NH₄⁺ (реакція з реактивом Неслера) і H₂S (утворення чорного осаду з ацететом свинцю);
- для нітрифікаторів – за наявністю в середовищі іонів NO₂⁻ (реакція з реактивом Гріса);
- для денітрифікаторів – за наявністю в середовищі іонів NO₂⁻, газу, рН (за індикатором бромтімоловим синім, що входить до складу середовища);

– для бактерій комплексу апаттох – за наявністю або відсутністю в середовищі іонів NH_4^+ і NO_3^- .

Концентрацію бактерій визначали:

– при посіві на тверде живильне середовище (МПА) шляхом підрахунку кількості колоній, що вирости з інокуляту ($0,2 \text{ см}^3$), та перерахунку їх кількості на 1 см^3 .

– при посіві в рідке середовище – методом граничних розведень по спеціальних таблицях.

Методи фізіологічних досліджень

Фізіологічні дослідження мікробного складу іммобілізованої біоплівки лабораторної біодискової установки виконували шляхом ідентифікації газоподібних метаболітів, що утворюються при обробці стічних вод в установці в контактних та проточних умовах, та динаміки їх концентрації протягом 14 діб [124].

Для фіксації утворення газу та аналізу його якісного і кількісного складу в процесі очищення модельних стічних вод з великим вмістом амонійного та нітратного азоту скористалися методикою, викладеною в науковій літературі [125]. Іммобілізований мікробіоценоз знімали з носія та розміщували в 5 дм^3 ПЕТ плящі (герметичній з кришкою, краном і шлангом для відведення та збирання газової суміші) в селективному живильному середовищі наступного складу (мг/дм^3): NH_4Cl – 400; NaNO_2 – 500; NaHCO_3 – 1000; KH_2PO_4 – 450; K_2HPO_4 – 500 і FeCl_3 – 20, як джерело заліза для апаттох-бактерій. Культивування при температурі 20°C виконували 14 діб. Газоподібні метаболіти збирали в спеціальне пристосування та аналізували на третю, сьому та чотирнадцяту добу інкубації. Паралельно в ці ж періоди відбирали проби води з культиватора та контролювали в них концентрацію азотовмісних сполук.

Оскільки живильне середовище з біомасою вже містило певний обсяг розчинених газів для чистоти проведення експерименту із суміші потрібно було видалити ці гази. Для цього, в ємність з живильним середовищем і біомасою

занурювали трубку, через яку, протягом 30 хв. пропускали суміш газів аргону і кисню: 93% і 7% відповідно. Кількість продувочної газової суміші було в 10 разів більше обсягу ємності з біомасою. Таким чином із живильного середовища з біомасою був видалений розчинений газ азот. Ємність з підготовленою таким чином сумішшю щільно закривали краном (без доступу кисню) і встановлювали в термостат при температурі 30°C. В процесі інкубування спостерігали за утворенням газу (рис. 2.1). Аналіз газової суміші виконували з дотриманням усіх правил відбору (в об'ємі 160 см³) на газовому хроматографі «Цвет-500» з використанням детектора теплопровідності (катарометру). Як газ-носій застосовувався гелій високого ступеня чистоти. Для більш повного поділу компонентів газової суміші аналіз проводився поетапно.



Рисунок 2. 1 – Утворення газоподібних метаболітів іммобілізованою біомасою в аноксидних умовах

Спочатку на 2-х метровій колонці, заповненій полімерним сорбентом «Полісорб-1» (сополімер дивінілбензол зі стиролом), було визначено вміст

суми легких слабкосорбуючих газів (аргону, кисню та азоту) і добре сорбуючих: метану і діоксиду вуглецю. На максимальній чутливості роздільна здатність катарометру з підсилювачем сигналу дозволяє провести виявлення домішок на рівні 0,001%. Таким чином, можна говорити про те, що концентрація сірководню в газовій суміші була менше 0,001%. Для визначення вмісту легких компонентів газової суміші, в першу чергу азоту, був проведений аналіз проби на алюмо-силікатному сорбенті «Цеоліт СаА-5» з розміром вхідних вікон в порожнині порової структури 4А. На колонці довжиною 1 метр були розділені і на хроматограмі відображені 3 піки (рис. 2.2):

№1 – сума аргону та кисню;

№2 – пік азоту;

№3 – пік метану.

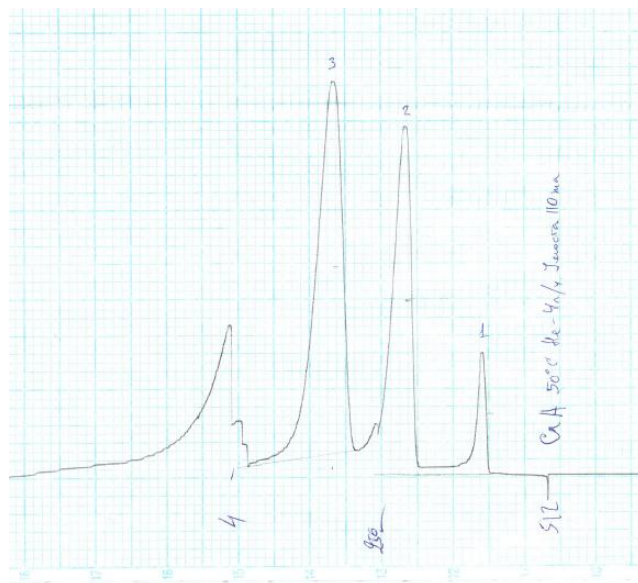


Рисунок 2.2 – Хроматограма газової суміші

Після кожного відбору проби для аналізування газу в ємність додавали порцію свіжого розчину, продували суміш аргонем з кіснім і знову визначали вміст амонійного азоту, нітритів і нітратів.

Методи біохімічних досліджень (інгібіторні експерименти)

Для біохімічних експериментів використали чотири інгібітори, які пригнічують ключові ферменти певних еколого-трофічних груп азотперетворюючого мікробіоценозу: тіосечовину, піразол, гідразин та гідроксиламін солянокислий (далі – гідроксиламін). Застосування інгібіторів базувалось на відомих впливах певних сполук на ключові етапи метаболізму АОБ, АОА, денітрифікуючих бактерій (гетеротрофної мікрофлори) та апамтох-бактерій [126] (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 – Вплив інгібіторів на мікробіологічні перетворення сполук азоту та активність деяких ферментів азоттрансформуючих мікроорганізмів

Мікробіологічні перетворення сполук азоту та активність ферментів	Інгібітори, що впливають			
	Тіосечовина	Піразол	Гідразин	Гідроксиламін
Амоніфікація	-	-	-	+++
Нітрифікація I фази (АОБ)	+++	+++	++	!
Нітрифікація АОА	+++	+++	-	Не відомо
Нітрифікація II фази	-	-	-	-
Апамтох	Не відомо	Не відомо	-	+++
Деамонізація	+++	+++	++	!
Денітрифікація	-	-	-	+++
Монооксигеназа амміака	+++	+++	-	
Гідроксиламін оксидоредуктаза	+++	+++	+++	!
Оксидоредуктази гетеротрофного метаболізму	-	-	-	+++

Примітки: + – пригнічує слабо, ++ – пригнічує активно, +++ – пригнічує дуже активно, – не впливає, ! – підсилює.

Інгібіторні експерименти виконували з двома видами іммобілізованої в біодисковій установці біоплівки: перший вид формували шляхом автоселекції протягом 3 – 4 тижнів при обробці в біодисковій установці стічної води, яка містила органічні речовини (ХСК 250 – 400 мгО/дм³), другий вид біоплівки формували протягом аналогічного терміну в модельних стічних водах, які не містили органічних речовин. Склад інкубаційного середовища об'ємом 100 см³ для першого виду біоплівки: 50 см³ суспендованого активного мулу; 5 см³ NaHCO₃ з розчину концентрацією 10,08 г/дм³; 2 см³ (NH₄)₂SO₄ з розчину концентрацією 5,3 г/дм³ (за ДСТУ ISO 9509:2013 [127]); 1 см³ NaNO₂ з розчину концентрацією 250 мг/дм³; 5 см³ стічної води, що містила розчинені органічні речовини; 2,5 см³ розчину інгібітора. Об'єм середовища доводили до 100 см³ відстояною протягом доби водопровідною водою. Склад інкубаційного середовища об'ємом 100 см³ для другого виду біоплівки: 50 см³ суспендованого активного мулу; 10 см³ (NH₄)₂SO₄ з розчину концентрацією 5,3 г/дм³; 10 см³ NaNO₂ з розчину концентрацією 250 мг/дм³; 2,5 см³ розчину інгібітора, і доводили об'єму інкубаційного середовища до 100 см³ відстояною водопровідною водою. Перед початком експерименту визначали вихідну концентрацію N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃ в інкубаційному середовищі.

Інгібіторний експеримент з біомасою іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценоза виконували в п'яти варіантах: 1 – контроль, 2 – з введенням тіосечовини, 3 – з введенням піразолу, 4 – з введенням гідразину, 5 – з введенням гідроксиламіну. Концентрація тіосечовини в пробі складала 1,8 мг/дм³, піразолу 2,0 мг/дм³, гідразину 1,2 мг/дм³, гідроксиламіну 1,0 мг/дм³.

Біоплівку прикріпленого активного мулу, який іммобілізувався на дисках полікарбонату знімали гумовим шпателем, збирали в колби та подрібнювали клітинні агрегати шляхом інтенсивного струшування. Потім переносили суспендований активний мул в конічні колби разом з середовищем для інкубування. Усі колби інкубували при температурі 20°C ± 2°C при розсіяному

світлі протягом 2 або 4 год методом струшування колб зі швидкістю, що утримувала біомасу в завислому стані і забезпечувала концентрацію розчиненого кисню ≥ 4 мг/дм³ (рис. 2.3).

Після інкубування в водному середовищі кожного варіанту визначали концентрації N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃. Для кожного виду біоплівки інгібіторний експеримент проводили в трьох серіях досліджень, одержані результати обробляли статистично [128].



Рисунок 2.3 – Проведення інгібіторного експерименту: а – колба з біомасою в живильному середовищі, б – інкубація п'яти варіантів середовища з біомасою

2.2.2 Методи дослідження впливу екологічних чинників на перетворення сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом

Досліджували вплив на активність різних еколого-трофічних груп в іммобілізованому азоттрансформуючому мікробіоценозі наступних екологічних чинників: температури, концентрації органічних речовин, концентрації розчиненого кисню, концентрації амонійного азоту, реакції середовища рН.

В інгібіторних експериментах, пригнічуючи метаболізм певних еколого-трофічних груп, досліджували вплив на деамонізацію середовища, концентрації органічних речовин і концентрації амонійного азоту.

В експериментах на лабораторній установці досліджували вплив на активність деамонізації та деазотації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом таких чинників, як: концентрації органічних речовин, концентрації розчиненого кисню, температури, реакції середовища рН. Оскільки при біологічній очистці стічних вод (деамонізації та деазотації) основні перетворення сполук азоту пов'язані з метаболізмом автотрофних мікроорганізмів, для яких органічні речовини є дуже інтенсивним інгібітором; саме цей екологічний чинник розглядали найретельніше. Вплив інших екологічних чинників вивчали в 2-х варіантах: в присутності органічних сполук (при контактних та проточних умовах обробки стічних вод), та за відсутністю органічних сполук (в контактних та проточних умовах обробки стічних вод).

2.3 Лабораторні установки для обробки стічних вод іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом

2.3.1 Конструкція і принципова схема роботи лабораторної біодискової установки

Поєднання протилежних за кисневим режимом мікробіологічних процесів видалення із стічних вод сполук азоту значно змінює традиційну технологію очищення. У розробленому лабораторному біореакторі поєднані протилежні способи трансформації різних форм азоту, що відбуваються в результаті, як окиснення, так і відновлення [129 – 131]. А застосування іммобілізованої біоплівки в системі очищення стічних вод на різних типах завантажувального матеріалу, в умовах зміни кисневого режиму, дозволяє домогтися ефективного очищення стічних вод від сполук азоту в одному об'ємі реактора [132].

Для опрацювання оптимальних параметрів очищення стічних вод від сполук азоту розроблена і сконструйована лабораторна установка, яка складається з двох паралельно встановлених біореакторів. Кожен біореактор може працювати як з двома, так і з однією мобільною секцією в синхронному або в автономному режимах. Перед біореакторами розміщені ємності, що виконують роль відстійників для осадження завислих речовин і усереднювач (за необхідністю). Стічна вода з приймальної ємності перекачується за допомогою перистальтичного дозуючого насосу AquaViva в першу зону біореактора, яка обладнана полікарбонатними дисками з іммобілізованою біоплівкою. Швидкість подачі стічної води насосом регулюється від 0,7 до 4,3 дм³/год. Тиск 0,5 Бар. Біологічним блоком очищення є біореактор, який складається з двох мобільних секцій. Перша секція призначена для очищення стічних вод від органічних сполук та окиснення азоту амонійного і нітритного в аеробних умовах; друга секція призначена для анаеробно/аноксидного окиснення амонію до молекулярного вільного азоту. Перша секція обладнана зануреними конструкціями у вигляді дисків, на яких сорбується і закріплюється біоценоз (біоконтакторами). Біоконтактори першої зони насаджені на вісь та обертаються паралельно один одному при зануренні на (30 – 40)% в рідину, яку очищують. Конструкційно установка виконана наступним чином: довжина кожної приймальної ємності 1180 мм, діаметр по внутрішньому краю 300 мм, кількість дисків зі стільникового полікарбонату 45 одиниць з діаметром 280 мм, та 51 одиниць з діаметром 100 мм. Діаметр внутрішнього отвору 50 мм. Ширина дисків 10 мм. Товщина матеріалу, тобто усіх площин полікарбонату – 0,3 мм. Диски чергуються за розмірами, а саме відстань між великими дисками 10 мм. Заповнення циліндричного лотку біореактора на 40%, тобто об'єм стічної рідини в робочому режимі 28,24 дм³. Швидкість обертання дисків регулюється перетворювачем частоти «CFM 210» в залежності від заданих умов; робочий режим від 9 до 12 об/хв. Обсяг рідини, яка оброблюється, в реакторі становить 70 – 100 дм³/доб. Площа поверхні іммобілізованої біомаси на завантаженні в затопленому біореакторі з розрахунку на площу поверхні

дисків: великих з $d=280$ у кількості 45 одиниць – $1530,9 \text{ дм}^2$ та малих з $d=100$ у кількості 51 одиниці – $169,32 \text{ дм}^2$. Всього $1700,22 \text{ дм}^2$. Маса іммобілізованого біоценозу на дисках однієї приймальної споруди $243,30 \text{ г}$ або $1,431 \text{ г/дм}^2$ сухої маси.

В другій секції розміщені затоплені біоконтактори, які виконані у вигляді напівдисків з волокнистого матеріалу фільтруючого мату (поліетилену високого тиску) в кількості 6 одиниць. Товщина кожного 40 мм . З розрахунку на активну поверхню фільтруючого мату $300 \text{ м}^2/\text{м}^3$ в кожній одиниці носія $4,2 \text{ м}^2$ активної поверхні для іммобілізації мікробіоценозу.

За рахунок використання іммобілізованих біоценозів, реактор може очищувати стічні води з високими концентраціями забруднюючих речовин, при цьому активний мул не виноситься зі споруди, на відміну від споруд з вільноплаваючим біоценозом.

Таким чином, за рахунок розвитку в такому біореакторі більш високих концентрацій активного мулу, час перебування стічної рідини скорочується до $1,5 - 3,0$ годин. Очистку стічних вод від органічних сполук і видалення сполук азоту здійснюють різні види біоценозу біологічної плівки на поверхні дисків в аеробній зоні та всередині – анаеробно/аноксидної зоні. Окиснення органічних сполук здійснюється за допомогою гетеротрофних мікроорганізмів, а окиснення мінеральних форм азоту – хемоавтотрофними мікроорганізмами (нітрифікація) відбувається в присутності розчиненого кисню (в аеробних умовах); відновлення окиснених форм азоту (денітрифікація) і аноксидне окиснення амонію (процес *anammox*) відбуваються за відсутності розчиненого кисню у воді або при його низьких значеннях ($\sim 1 \text{ мг/дм}^3$).

При обертанні занурених дисків в стічну рідину відбувається процес сорбції нерозчинених, колоїдних та розчинених забруднюючих речовин на біоплівці. Коли біоплівка знов опиняється на повітрі, відбувається інтенсивне поглинання кисню та окиснення вже адсорбованих забруднень.

Зовнішній вигляд розробленої очисної установки – дисковий занурений біореактор представлений на рис. 2.4.



Рисунок 2.4 – Зовнішній вигляд очисної установки з іммобілізованим мікробіоценозом на дисках

У біореакторі відсутня примусова подача кисню, традиційно необхідного для окиснення органічних сполук, а також об'єднані переваги очищення стічних вод від сполук азоту нітрифікуючим іммобілізованим біоценозом і аноксидним окисненням, що не потребує додаткового вуглеводного живлення.

Схема обробки стічних вод для видалення сполук азоту в аеробно/аноксидних умовах представлена на рис. 2.5. Циліндричний корпус (1), в якому розташований вал (2), на валу перпендикулярно закріплені диски (3) з полікарбонату, які чергуються за розмірами, диски містять на поверхні іммобілізований біоценоз, в корпус біореактора через трубопровід (4) з первинного відстійника (5) подається стічна рідина насосом-дозатором (6), вал рухається за допомогою низькообертового електродвигуна (7), швидкість обертання дисків на валу регулюється перетворювачем частоти (8). Після обробки стічної рідини іммобілізованим біоценозом вода подається через трубопровід відведення (9) у вторинний відстійник (10).

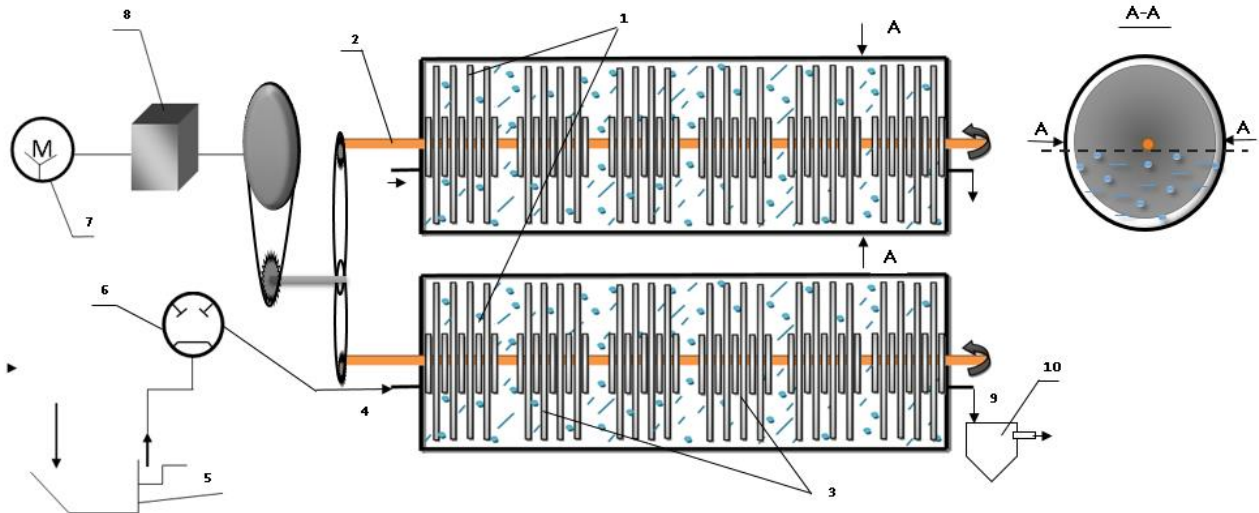


Рисунок 2.5 – Принципова технологічна схема очищення стічних вод від сполук азоту в аеробно/аноксидних умовах

Ключовою умовою є спільне обертання валів з дисками-біосорберами у паралельних спорудах з однаковою швидкістю від єдиного приводу. Стічні води подаються по трубопроводу з первинного відстійника насосом-дозатором у циліндричний лоток-приймач, який заповнений на 40% від загального об'єму (A-A). У біореакторі стічні води контактують з іммобілізованим біоценозом на дискових носіях, які в свою чергу забезпечують очищення стічних вод від органічних речовин, сполук азоту та фосфору [133, 134].

Диски обертаються на валу. Швидкість обертання можна змінювати відповідно заданих умов. За рахунок обертання на поверхні дисків відбувається насичення киснем іммобілізованої біомаси, а при зануренні у стічну воду – процеси окиснення поліютантів та деструкція органічних речовин.

Вхідні та вихідні отвори розташовані на рівні 1/3 від осі біореактора, який заповнений стічною рідиною для очищення. Також в нижній частині біля дна передбачений отвір для зливання рідини в разі необхідності. Обертаються диски за допомогою електроприводу.

Залежно від складу стічної води, яка надходить, і потужності споруд, можуть застосовуватися різні схем розміщення обладнання, швидкості обертання дисків та варіанти розміщення зон з біоконтакторами. Розроблений

біореактор може виконувати функції пілотної промислової установки для локального очищення стічних вод від сполук азоту. За своїми параметрами біореактор при роботі в проточному режимі являв собою неповний витиснювач, що підтвердили і подальші експериментальні дослідження.

2.3.2 Вибір матеріалу носія

Процес іммобілізації клітин активного мулу полягав у створенні таких умов, які обмежують рухливість мікроорганізмів шляхом закріплення їх на твердому носії. На ефективність утворення іммобілізованої біоплівки впливає матеріал носія.

Основним критерієм вибору матеріалу носія є:

- інертність (безпека) носія по відношенню до мікроорганізмів, які повинні бути іммобілізовані: хімічний склад носія не повинен бути токсичним або мати бактерицидні властивості;
- за своїми механічними, хімічними і біологічними властивостями носій повинен мати стабільність до дії продуктів метаболізму мікроорганізмів активного мулу;
- ефективність утримування клітин мікроорганізмів, що належать до різних таксономічних груп;
- відсутність перешкод для дифузії поживних речовин в клітини і, у разі необхідності, для окиснення субстрату – дифузії кисню до біомаси біоплівки, а також видалення продуктів метаболізму;
- невелика вартість, можливість використання залишків виробництва і доступність застосування.

Як матеріали для іммобілізації біоценозів у лабораторній біоустановці були обрані – полікарбонат – для дисків першої секції біореактора і поліетилен високого тиску – фільтруючий мат – для виготовлення затоплених біоконтакторів. Ці адсорбенти – хімічно стабільні, мають високу біологічну стійкість і легко регенеруються.

В якості носіїв першої зони використані диски з полікарбонату. Стільникова внутрішня будова дисків з полікарбонату сприяє інтенсифікації обмінних процесів ззовні та всередині ємності дисків, що є принципово новим конструктивним оформленням біодисків (рис. 2.6, 2.7).



Рисунок 2.6 – Стільниковий полікарбонат для іммобілізації мікробіоценозу



Рисунок 2.7 – Диски стільникового полікарбонату з іммобілізованим мікробіоценозом

Диски насаджували на горизонтальний вал на відстанні – 1,0 – 1,2 см один від одного для уникнення кольматації. Сама товщина полікарбонату також варіювалась від 1,0 до 1,2 см. Обсяг біоконтакторів може змінюватися і залежить від складу і параметрів стічної води, що надходить.

Стільникова будова дисків з полікарбонату сприяє обмінним процесам зовні та всередині тіла дисків, що є принципово новим конструктивним оформленням біодисків. Крім інтенсифікації масообмінних процесів, застосування цих дисків дозволяє збільшити питому площу їх поверхні за рахунок бічної поверхні отворів, забезпечити інтенсивне обростання поверхні біоплівкою і кількість активної біомаси.

Для виготовлення носіїв другої (анаеробно/анаксидної) зони використовували матеріал – лінійний поліетилен високого тиску (ЛПВТ). З цього матеріалу виготовляють фільтруючі мати («японські мати»), які використовують для біофільтрів очищення води у ставках та водоймах рибогосподарського призначення. Цей матеріал має високу активну поверхню ($300 \text{ м}^2/\text{м}^3$), ворсисту і пористу структуру і гарні адгезійні властивості, що сприяє іммобілізації мікробіоценозу (рис. 2.8). За даними авторів [135] експериментально виявлено найкращий тип завантажувального матеріалу – поліетилен у вигляді нерухомої губчастої поверхні, який має суттєву перевагу над іншими носіями за рахунок питомих показників: швидкості видалення азоту $0,4 \text{ г/г без.р-ни/доб}$ та $30,0 - 90,0 \text{ г N/м}^3 \text{ доб}$.



Рисунок 2.8 – Фільтруючий мат – матеріал для виготовлення дисків-біоконтакторів другої зони

Всередині носія утворювалась біоплівка з аноксидних і анаеробних мікроорганізмів, які здійснювали анаеробне окиснення амонію до молекулярного азоту.

2.3.3 Методи дослідження екологічних характеристик іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу у контактному та проточному режимах обробки стічних вод на біодисковій установці

Установка дисковий біореактор працювала у проточному режимі безперервно 60 діб з урахуванням нарощення та адаптації мікробіоценозу. Швидкість подачі стічної рідини 4,26 дм³/год при 11,6 об/хв. Відпрацювання ефективності деазотації та деамонізації проводили на модельних та натурних стічних водах мінерального та органічного складу. Перший режим: при збільшеному навантаженні за ХСК, БСК₅ і сполуками азоту, другий режим: при невеликих концентраціях ХСК, БСК₅ і збільшеному навантаженні за сполуками азоту та третій режим на мінеральному середовищі. В першому режимі пропускали модельний розчин, максимально близький до складу стічної води, що утворюється під час виробництва молочних продуктів, який містив органічні сполуки – білки, жири, вуглеводи, а також амонійний азот, нітрити, нітрати, фосфати. Процес адаптації біомаси і вилучення сполук азоту із модельного розчину контролювали за динамікою концентрації іонів амонію, нітритів і нітратів. Склад модельного середовища в 50 дм³: 500 см³ молочної сироватки, NH₄NO₃ – 5,72 г (з розрахунку БСК:N – 100:5). Протягом декількох діб відбувалось інтенсивне зростання біомаси на дисках і суттєве зменшення ХСК очищеної води, а також концентрації в ній сполук азоту. Зовнішнє іммобілізована біомаса являла тонкий, білястий шар світло-молочного кольору. Біомаса, яка утворювалася на дисках в процесі очищення води, самовільно видалялась під час руху води без додаткового впливу.

На кожному етапі роботи 5 разів здійснювали контроль – визначення основних показників складу стічних вод: ХСК, N_{орг.}, N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃,

розчинений O_2 та рН середовища. Проби відбирали в трьох секціях біореактора протягом 5 год, щогодини.

У контактному режимі установка дисковий біореактор працювала 28 діб, контроль роботи здійснювали 6 разів. Швидкість обертання біодисків 11,6 об/хв. Кожні 24 год повністю оновлювали стічну воду для обробки в біологічній установці. Для цього готували модельну стічну воду в об'ємі 30 дм^3 , яка складалась з молочної сироватки 200 мл та стічної води ПрАТ "ВБД Україна"- "ХМК" – 500 мл (зі складом $N-NO_2$ – $4,33 \text{ мг/дм}^3$; $N-NO_3$ – $40,4 \text{ мг/дм}^3$; $N-NH_4$ – $71,2 \text{ мг/дм}^3$; ХСК – 5790 мгО/дм^3 ; БСК₅ – $4300 \text{ мгО}_2/\text{дм}^3$).

Процес контролювали визначенням наступних показників: ХСК, азот амонійний, азот нітритів, азот нітратів, загальний азот, органічний азот, білки, вільні амінокислоти, величина рН, розчинений кисень та щільність біомаси мікробіоценозу.

Експериментальні дослідження у контактних умовах виконували протягом 24 год, відбір проб та визначення масової концентрації проводили в вихідній стічній воді, в першу, другу, третю, сьому та 24 годину обробки в біодисковій установці.

Для визначення таксономічних груп іммобілізованих мікроорганізмів, які брали участь в трансформації хімічних сполук модельного стоку, проводилися бактеріологічні дослідження біомаси. Щільність біомаси в біодисковій установці визначали двома способами: з допомогою маркерів і шляхом прямого зважування біоконтаторів. Попередньо зважені маркери прикріплювали до біоконтаторів у різних зонах і через певний проміжок часу виймали і зважували з подальшим перерахуванням на площу носія і об'єм біореактора. Для реалізації другого способу контролю процесу іммобілізації зважували чисті диски з полікарбонату і через певний проміжок часу роботи біореактора виймали біоконтатори з різних зон і зважували. Щільність вільно плаваючого активного мулу визначали традиційним методом [136].

2.4 Склад натурних (реальних) та модельних стічних вод

Для експериментальних досліджень та відпрацювання режимів роботи установки у контактних та проточних умовах очищення, використовували як натуральні (реальні), так і модельні стічні води молочного виробництва. Для приготування модельних стічних вод використовували у першому варіанті молочну сироватку та розчин солей азоту (мг/дм³): NH₄NO₃ – 115 або NaNO₂ – 100 + NH₄Cl – 80 (Варіант №1), у другому варіанті модельні стічні води складались з молочної сироватки та стічної води ПрАТ "ВБД Україна"ХМК" з додаванням розчину солей азоту, як і в першому варіанті (Варіант №2). Третій варіант – це модельні стічні води мінерального складу, які мали підвищені концентрації солей азоту (мг/дм³): NH₄Cl – 500; NaNO₂ – 250; NaHCO₃ – 1000; NaNO₃ – 120 (Варіант №3) (табл. 2.3).

Таблиця 2.3 – Хімічний склад модельних стічних вод

Показники	Варіант №1	Варіант №2	Варіант №3
ХСК, мгО/дм ³	1120	3260	-
БСК ₅ , мгО ₂ /дм ³	740	1480	-
N-NH ₄ , мг/дм ³	25,0	48,4	119,4
N-NO ₂ , мг/дм ³	3,09	8,36	16,44
N-NO ₃ , мг/дм ³	12,8	20,14	18,82

Хімічний склад молочної сироватки та стічних вод молокозаводу, які використовували як складові для модельних стічних вод, представлені в табл. 2.4.

Таблиця 2.4 – Хімічні показники складу молочної сироватки та стічних вод молокозаводу

Вид сировини	Азот за К'ельдалем, мг/дм ³	Амонійний азот, мг/дм ³	ХСК, мгО/дм ³	БСК ₅ , мгО ₂ /дм ³
Молочна сироватка	135,0	47,0	53500	32000
Стічні води молокозаводу (середньодобові)	55,2	18,8	6790	4300

2.5 Методи гідрохімічних досліджень

Всі вимірювання показників складу і властивостей стічних вод проводили за атестованими методиками [137 – 144] (табл. 2.5) в акредитованій лабораторії на відкаліброваних приладах одразу після відбору проби.

Додатково проводили визначення концентрації розчиненого кисню в стічній воді за допомогою портативного датчику кисню оксиметр OHAUS StarterST300D (який дозволяє проводити вимірювання в біодисковій установці з високою чутливістю паралельно з вимірюванням температури стічної рідини) та водневого показника потенціометричним методом за допомогою іономіру лабораторного И-160 М (рис. 2.9). Прилади були попередньо відкалібровані та повірені.



Рисунок 2.9 – Оксиметр OHAUS StarterST300D (а),
іономір лабораторний И-160 М (б).

Таблиця 2.5 – Методики визначення показників контролю

№	Найменування показника контролю	Позначення НД та МВВ, за якою отримано результат вимірювання	Позначення одиниці	Діапазон і похибка вимірювань	Метод вимірювання
1	Водневий показник, од. рН [137]	МВВ 081/12-0317-06	од. рН	1,0 – 10,0 $\Delta = \pm 0,1$	Потенціометричний
2	Температура	МВВ 081/12-0311-06	°С	1,5 – 70 $\Delta = \pm 0,1$	Фізичний, контактний
3	Хімічне споживання кисню (ХСК) [138]	КНД 211.1.4.021-95	мгО/дм ³	5 – 10000 $\Delta = \pm (0,7 – 800)$	Титрометричний
4	Біологічне споживання кисню (БСК ₅) [139]	КНД 211.1.4.024-95	мгО ₂ /дм ³	3 – 10000 $\Delta = \pm (0,21 – 700)$	Титрометричний
5	Азот амонійний N-NH ₄ [140]	КНД 211.1.4.030-95	мг/дм ³ %	0,1 – 50 $\delta = \pm (20 – 9)$	Фотоколориметричний метод з реактивом Неслера
6	Нітриди N-NO ₂ [141]	КНД 211.1.4.023-95	мг/дм ³	0,03–10 $\Delta = \pm (0,009 – 2)$	Фотоколориметричний метод з реактивом Гріса
7	Нітрати N-NO ₃ [142]	КНД 211.1.4.027-95	мг/дм ³ %	0,5–1000 $\delta = \pm (25 – 16)$	Фотометричний метод по саліциловій кислоті
8	Розчинений кисень за Вінклером [143]	МВВ 081/12-0008-01	мг/дм ³ %	1 – 14 $\delta = \pm (20 – 10)$	Метод йодометричного титрування
9	Азот загальний (білковий і небілковий) за К'ельдалем [144]	КНД 211.1.4.031-95	мг/дм ³	1 – 200 $\Delta = \pm (0,25 – 20)$	Титрометричний
10	Білки	Кількісне визначення білка на основі біуретової реакції (за метод НД літератури)	мг/дм ³	-	Фотоелектроколориметричний
11	Вільні амінокислоти	Використання нінгідринової реакції для кількісного визначення α -амінокислот в різних об'єктах (МР)	% мг/дм ³	-	Фотоколориметричний метод

ВИСНОВКИ ДО ДРУГОГО РОЗДІЛУ

1. Формування іммобілізованої біоплівки з мікроорганізмів-деструкторів органічних сполук та сполук азоту в виробничих умовах виконували при експозиції носіїв протягом 6 – 8 тижнів в муловій рідині діючих аеротенків: для формування біоплівки, в якій переважають гетеротрофні мікроорганізми – на початку аеротенка-витиснювача, а для накопичення в біоплівці оліготрофних та хемоавтотрофних мікроорганізмів – в кінці аеротенка.

2. Формування біоплівки азоттрансформуючих мікроорганізмів, збагаченої апаттох-бактеріями, в лабораторних умовах виконували на фільтруючих матах та дисках лабораторної установки у контактних та проточних умовах. Автоселекція такої біоплівки тривала декілька місяців.

3. Дослідження екології азоттрансформуючого мікробіоценозу включало такі напрями: дослідження складу мікробіоценозу (мікробіологічними, фізіологічними та біохімічними методами), дослідження відносин між еколого-трофічними групами в мікробіоценозі, дослідження впливу екологічних умов (концентрації амонійного азоту та органічних речовин) на метаболізм окремих азоттрансформуючих груп мікроорганізмів. Ідентифікацію газоподібних метаболітів, що утворюються мікробіоценозом, виконали газохроматографічно. В інгібіторних експериментах використали чотири інгібітори, які пригнічують ключові ферменти окремих еколого-трофічних груп мікробіоценозу: АОБ, АОА, апаттох-бактерій, денітрифікуючих бактерій.

4. Розроблено конструкцію та виготовлено лабораторну установку для обробки стічних вод різного складу іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом, що складається з двох паралельно встановлених біореакторів, які можуть працювати у синхронному або в автономному режимах.

5. Шляхом аналізу показників – інертність, механічні, хімічні і біологічні властивості, адгезія до клітин мікроорганізмів, забезпечення

масообміну, вартість, в якості матеріалу та форми (які активно впливають на склад іммобілізованого мікробіоценозу) перспективними носіями для іммобілізації азоттрансформуючого мікробіоценозу обрано диски з полікарбонату і фільтруючі мати з матеріалу поліетилену.

6. Дослідження впливу екологічних чинників на життєдіяльність іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу проводили у контактному та проточному режимах обробки стічних вод в біодисковій установці. У проточному режимі експерименти здійснювали 10 разів протягом 28 діб, у контактному режимі – 5 разів протягом 10 діб. Контроль процесів вели за динамікою ХСК, концентрацій $N-NH_4$, $N-NO_2$, $N-NO_3$, розчиненого O_2 та рН.

7. Експерименти на лабораторній біодисковій установці виконували як з натуральними (реальними), так і з модельними стічними водами молочного виробництва, для приготування яких використовували молочну сироватку та розчин солей сполук азоту. Щільність біомаси в біодисковій установці визначали двома способами: з допомогою маркерів і шляхом прямого зважування біоконтаторів.

8. Всі вимірювання показників складу і властивостей стічних вод проводили за атестованими методиками в акредитованій лабораторії на відкаліброваних приладах.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях [132 – 135].

РОЗДІЛ 3

ЕКОЛОГІЯ ІММОБІЛІЗОВАНОГО АЗОТТРАНСФОРМУЮЧОГО МІКРОБІОЦЕНОЗУ ЛАБОРАТОРНОЇ ОЧИСНОЇ УСТАНОВКИ

3.1 Теоретичні передумови складу та міжвидових співвідношень в імобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозах очисних споруд

Мікробіоценози біологічних очисних споруд формуються шляхом автоселекції, в якій вирішальними чинниками добору служать склад стічних вод, що оброблюються, та механічні й фізико-хімічні параметри обробки. При наявності в оброблюваних стічних водах органічних на неорганічних сполук азоту мікробіоценози біологічних очисних споруд здатні здійснювати всі основні стадії кругообігу азоту: азотфіксацію, амоніфікацію, нітрифікацію, апаттох-процес, асиміляційну й дисиміляційну нітратредукцію. Видалення амонійного азоту (деамонізація) зі стічних вод при біологічній очистці відбувається шляхом певної асиміляції його мікробіоценозами очисних споруд в конструктивному метаболізмі, та головним чином – шляхом окиснення хемолітоавтотрофними нітрифікуючими мікроорганізмами та апаттох-бактеріями. Нітрифікуючі мікроорганізми включають як амонійокиснюючі бактерії, так і археї (АОБ і АОА відповідно), які здійснюють 6-електронне окиснення NH_3 до NO_2^- (нітрифікатори I фази), і нітритоокиснюючі бактерії (НОБ, нітрифікатори II фази), які виконують 2-електронне окиснення NO_2^- до NO_3^- , а також «повні окиснювачі NH_3 » (соматтох) бактерії, які здійснюють 8-електронне окиснення NH_3 до NO_3^- [145, 146]. Відомий також процес гетеротрофної нітрифікації: деякі бактерії та цвілеві гриби, здатні до гетеротрофного окиснення аміаку. У цьому випадку іони амонію окиснюються до нітрату без запасання енергії. Проте, активність гетеротрофної нітрифікації порівняно з хемолітоавтотрофною в умовах очисних споруд дуже мала. Головна задача очистки – видалення азоту, яке відбувається переважно за рахунок процесів хемолітоавтотрофної нітрифікації і гетеротрофної денітрифікації, проте навіть в умовах активної аерації в активному мулі

присутні апаттох-бактерії, які, ймовірно, роблять певний внесок у загальне видалення азоту [147, 148]. До того ж видалення азоту за участю апаттох-бактерій економічно вигідніше ніж після повної нітрифікації з подальшою денітрифікацією.

Імобілізація мікроорганізмів на твердому носії внаслідок розвитку біоплівки дозволяє значно збільшити щільність і біорізноманіття активних мікроорганізмів в очисних спорудах, знизити константу напівнасичення, підвищити стійкість мікробіоценозів до стресових впливів завдяки чому збільшується швидкість, глибина і експлуатаційна надійність очищення води. Збільшення тривалості перебування мікроорганізмів в реакційному середовищі має важливе значення з урахуванням витрат на утилізацію великих кількостей біомаси активного мулу. У системах аеробного очищення з прикріпленими мікроорганізмами встановлюється рівновага між процесами приросту біоплівки і її вимивання, у зв'язку з чим відпадає необхідність в рециркуляції біомаси, принципово необхідної при очищенні стічних вод в традиційних аеротенках, що працюють на вільноплаваючій біомасі [149].

Перераховані вище основні переваги систем аеробного очищення з іммобілізацією мікроорганізмів активного мулу, перед традиційними аеротенками з вільноплаваючою біомасою, в великій мірі пов'язані з важливою особливістю будови біоплівки – утворення анаеробного шару внаслідок обмеженого доступу кисню в її внутрішні зони [150, 151], що уможливорює анаеробні мікробіологічні процеси, в том числі необхідні для очистки стічних вод від сполук азоту – апаттох-процес та денітрифікацію.

Таким чином, теоретично іммобілізований мікробіоценоз лабораторної установки, що трансформує органічні та неорганічні сполуки азоту, може включати амоніфікаторів, АОБ, АОА, НОБ, апаттох-бактерії та денітрифікуючі мікроорганізми, які пов'язані трофічними та просторовими взаємодіями, впливають одне на одного та різним чином реагують на вплив екологічних чинників. Вивчення екології двох варіантів іммобілізованих мікробіоценозів очисної установки (І варіант – мікробіоценоз, сформований в

присутності органічних сполук, II варіант – мікробіоценоз, сформований в мінеральному середовищі), що ефективно очищали стічні води від азотвмісних сполук, включало три напрямки (рис. 3.1):



Рисунок 3.1 – Напрямки дослідження азоттрансформуючого мікробіоценозу

- визначення основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, що входять в азоттрансформуючий мікробіоценоз, приділяючи найбільшу увагу деамонізуючим бактеріям;
- визначення відношень між різними еколого-трофічними групами, що трансформують сполуки азоту в мікробіоценозі;
- визначення кількісних показників впливу екологічних чинників на активність деамонізації та деазотації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом в інгібіторних експериментах.

3.2 Визначення основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, що входять в азоттрансформуючий мікробіоценоз та зумовлюють видалення амонійного азоту зі стічних вод

Мікробіоценози очисних споруд містять тисячі видів бактерій. Причому як якісний, так і кількісний склад цих мікробіоценозів постійно зазнає змін внаслідок впливу хімічного та мікробіологічного складу стічних вод, фізичних, механічних та хімічних параметрів обробки. Тому для масштабів очисних споруд і способу біологічної очистки технологічно доцільною є інформація про активність не окремих конкретних видів бактерій та їх детальна ідентифікація, а активність певних еколого-трофічних груп і кінетичні показники процесів, які вони здійснюють. До того ж методи FISH-мікроскопії з використанням специфічних мічених зондів та методи молекулярно-біологічної детекції ключового функціонального гена амонійоксилюючих бактерій і архей є мало доступними для загального використання.

Тому дослідження складу мікробіоценозу, що здійснює перетворення органічних та неорганічних сполук азоту, були спрямовані в першу чергу на виявлення та ідентифікацію еколого-трофічних груп азоттрансформуючих мікроорганізмів (АОБ, АОА, НОБ, апаттох-бактерій та денітрифікуючих мікроорганізмів), особливо тих, які зумовлюють видалення амонійного азоту з стічних вод – АОБ, АОА, апаттох-бактерій.

Ці дослідження виконували трьома незалежними методами: мікробіологічним, фізіологічним та біохімічним (інгібіторним аналізом).

3.2.1 Мікробіологічні дослідження мікробного складу іммобілізованої біоплівки лабораторної установки

Для спостереження процесів трансформації сполук азоту і встановлення щільності іммобілізованої біомаси, біореактор, залежно від часу перебування в ньому води, що очищувалася, умовно поділили на три зони. До дисків кожної з трьох зон прикріплювали знімні маркери, які були фрагментами полікарбонату з відомою площею і вагою. На маркерах, саме як на дисках, сорбувалася біомаса, мікроорганізми якої брали участь в очищенні модельного стоку. Кожна зона відповідала різному періоду контакту води, яка очищувалась, з біомасою:

у першій зоні відбувалося очищення води протягом 1 – 2 годин, у другій 2 – 3 години, у третій 3 – 4 години. У ході дослідження визначено, що щільність біомаси іммобілізованої на дисках, змінюється протягом водотоку. На дисках першої зони щільність біомаси складала – 4,62 мг/см², на дисках другої – 3,72 мг/см², на дисках третьої – 1,32 мг/см². Загальні характеристики біоплівки: зольність 1,87 мг/г с.р. у першій зоні, 1,64 мг/г с.р. – у другій, та 0,58 у третій зоні біореактора.

Мікробіологічні дослідження включали визначення концентрації в біоплівці основних азоттрансформуючих еколого-трофічних груп: амоніфікуючих, нітрифікуючих (I фази) та денітрифікуючих. Результати досліджень біоплівки з установки, яка протягом 7 тижнів працювала на стічній воді наступного складу (табл. 3.2), надано в табл. 3.1.

Таблиця 3.1 – Склад еколого-трофічних груп в іммобілізованій біоплівці лабораторної біодискової установки

Еколого-трофічні групи	1 зона біореактора	2 зона біореактора	3 зона біореактора
Сапрофіти, клітини/Г _{сух.реч.}	$6,6 \cdot 10^9$	$2,6 \cdot 10^5$	$2,8 \cdot 10^3$
Амоніфікатори, клітин/Г _{сух.реч.}	$1,5 \cdot 10^5$	$9,5 \cdot 10^7$	$9,5 \cdot 10^4$
Нітрифікатори, клітин/Г _{сух.реч.}	$9,5 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^4$
Денітрифікатори, клітин/Г _{сух.реч.}	$9,5 \cdot 10^5$	$11,0 \cdot 10^7$	$14,0 \cdot 10^7$
Апаттох-бактерії, клітин/Г _{сух.реч.}	відсутні	присутні	присутні

В результаті очищення стічних вод в лабораторному біореакторі ефективність видалення амонійного азоту становить 98,9%, загального азоту – 74% – 83%, фосфатів – 43% – 50%, органічних речовин за ХСК – до 98% [152].

Таблиця 3.2 – Склад стічних вод, які обробляли в біодисковому реакторі іммобілізованим мікробіоценозом

Стічна вода	pH	N-NO ₂ , мг/дм ³	N-NO ₃ , мг/дм ³	N-NH ₄ , мг/дм ³	PO ₄ ³⁻ , мг/дм ³	ХСК, мгО/дм ³	БСК ₅ , мгО ₂ /дм ³	N _{заг.} , мг/дм ³	P _{заг.} , мг/дм ³
Молокопереробного підприємства	6,52	0,091	3,54	38,07	32,4	1200	620	68,5	56,1
Тютюнового підприємства	5,1	2,4	19,55	20,5	22,0	2300	1200	53,8	48,6
Нафтопереробного підприємства	7,40	0,37	17,61	12,25	3,75	38,0	15,0	35,2	-
Модельні стічні води	4,09	<0,03	1,81	25,0	34,4	600	420	53,8	48,6

Як свідчать представлені дані, концентрація бактерій досліджених еколого-трофічних груп в іммобілізованому мікробіоценозі по довжині біореактора досить неоднорідна. Концентрація певних гетеротрофних мікроорганізмів – сапрофітів (яких за методом визначення можна віднести до споживачів азоту в складних органічних сполуках – білках та амінокислотах) і амоніфікаторів суттєво зменшується, особливо сапрофітів. Концентрація інших гетеротрофних мікроорганізмів – денітрифікуючих, суттєво зростає, що може бути спричинено тільки підвищенням концентрації нітратів в цій зоні. А концентрація нітрифікуючих бактерій до кінця біореактора зменшується, хоча й не досить суттєво. За морфологічними характеристиками біоплівки (рожевий колір) можливо припустити наявність апаттох-бактерій в 2-й та 3-й зонах біореактора.

Таким чином, мікробіологічні дослідження підтвердили припущення про наявність в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі таких еколого-трофічних груп як амоніфікуючі, АОБ, денітрифікуючі та можливо апаттох-бактерій [153]. Причому з суттєвою перевагою гетеротрофної мікрофлори – амоніфікуючих та денітрифікуючих бактерій. Що кореспондується з даними наукової літератури про інтенсивне інгібування АОБ та НОБ органічними речовинами та надзвичайно токсичною дією цих речовин на апаттох-бактерії [35, 154, 155].

3.2.2 Фізіологічні дослідження мікробного складу іммобілізованої біоплівки лабораторної установки

Фізіологічні дослідження іммобілізованого мікробіоценозу передбачали аналіз метаболітів, що утворюються при обробці стічних вод в установці у динаміці культивування, та проведення ідентифікації газоподібних продуктів метаболізму біоплівки за методикою, розробленою [156] для виявлення проходження апаттох-процесу.

Дослідження концентрації метаболітів, які створювались біоплівкою, виконували у контактних та проточних умовах в динаміці обробки стічних вод в установці. Результати дослідження наведені в табл. 3.3, 3.4.

Таблиця 3.3 – Якісний та кількісний склад метаболітів, що утворюються при обробці стічних вод в біодисковій лабораторній установці (умови контакті)

Показник	Вхідна стічна вода	Показники після терміну обробки, год				
		0,5	1	2	3	4
O ₂ , мг/дм ³	3,79	2,01	1,64	2,47	2,77	2,14
N-NH ₄ , мг/дм ³	66,17	51,4	49,64	42,67	38,18	29,8
N-NO ₂ , мг/дм ³	7,52	8,48	8,11	8,5	8,42	8,32
N-NO ₃ , мг/дм ³	7,78	13,96	15,06	13,91	16,74	18,1
ХСК, мгО/дм ³	1150	970	582	485	194	40
pH, од. pH	6,75	7,21	7,36	7,42	7,46	7,54
t H ₂ O, °C	20,4	21,3	21,6	21,9	22,0	22,0

Таблиця 3.4 – Якісний та кількісний склад метаболітів, що утворюються при обробці стічних вод в біодисковій лабораторній установці (умови проточні)

Термін очищення, год	pH	N-NO ₂ , мг/дм ³	N-NO ₃ , мг/дм ³	N-NH ₄ , мг/дм ³	PO ₄ ³⁻ , мг/дм ³	ХСК, мгО/дм ³	N _{заг} , мг/дм ³
0	6,52	0,091	3,54	39,07	32,4	1200	68,5
3	8,13	0,04	<0,5	2,4	29,47	-	-
5	8,38	<0,03	<0,5	0,17	18,8	21	11,2

Як свідчать наведені дані, обробка стічних вод в біодисковій установці кардинально зменшувала ХСК. Концентрація N загального до третьої години обробки зменшувалась (табл. 3.4), причому, пропорційно ХСК. Скориставшись відомим співвідношенням асиміляції органічних речовин зі стічної води – БСК:N = 100:5. З урахуванням співвідношення БСК:ХСК в стічних водах, яке становить в нашому дослідженні 0,75, розраховуємо відоме співвідношення на ХСК:N і одержуємо 133:5. Таким чином зменшення ХСК з 1200 до 21 мгО/дм³ (на 1179 мгО/дм³) відповідає зменшенню концентрації N-NH₄ на 44 мг/дм³. Подальше зменшення концентрації N-NH₄ зумовлено нітрифікацією, яку здійснюють АОБ (можливо, і АОА). Розвиток апаттох-процесу в цих умовах при наявності високих концентрацій органічних субстратів представляється маловірогідним. При детальному моніторингу (табл. 3.3) спостерігається зростання концентрації N-NO₃, що свідчить про наявність другої фази нітрифікації, тобто метаболізму НОБ.

Таким чином фізіологічні дослідження розчинених у стічній воді метаболітів іммобілізованого мікробіоценозу свідчать про наявність в досліджуваному азоттрансформуючому мікробіоценозі таких еколого-трофічних груп як амоніфікуючі, АОБ (можливо АОА), НОБ.

Ідентифікація та визначення концентрації газоподібних продуктів метаболізму іммобілізованого мікробіоценозу виконували в спеціальному дослідженні згідно методики [157]. Іммобілізований мікробіоценоз знімали з носія та розміщали в ПЕТ пляшці в селективному середовищі наступного складу (мг/дм³): NH₄Cl – 400; NaNO₂ – 500; NaHCO₃ – 1000; KH₂PO₄ – 450; K₂HPO₄ – 500 і FeCl₃ – 20, як джерело заліза для апаттох-бактерій. Культивування при температурі 20 °С виконували 14 діб. Газоподібні метаболіти збирали в спеціальне пристосування та аналізували на третю, сьому та чотирнадцяту добу інкубації. Паралельно в ці ж періоди відбирали проби води з культиватора та контролювали в них концентрацію азотовмісних сполук. Результати газохроматографічного аналізу газоподібних метаболітів, які збирали спеціальним пристроєм, надані в табл. 3.5.

Таблиця 3.5– Склад біогазу в динаміці культивування

Компоненти газової суміші	Хімічний склад газової фази (%) в перерахунку на сухий газ на період відбору, доба			
	0	3	7	14
Ar + O ₂	93,0 + 7,0	6,23	5,93	5,21
N ₂	відсутній	51,33	81,61	85,69
CH ₄	відсутній	42,43	12,21	7,30
CO ₂	відсутній	0,32	0,25	1,80
H ₂ S	відсутній	< 0,001	< 0,001	< 0,001

З даних табл. 3.5 видно, що частка газоподібного азоту в газовій суміші стабільно зростає в процесі контакту іммобілізованої біомаси з мінеральним модельним розчином в динаміці культивування. Так, якщо за 3 доби частка азоту в суміші складала 51,33%, то за 7 діб частка азоту складала вже 81,61%, а за 14 діб – 85,69%. Вуглекислий газ був присутній в мінімальних концентраціях, що кореспондується з дослідженнями [158], які показали що при метаболізмі апаттох-бактерій рівень утворення CO₂ знижується на 90%.

В таблиці 3.6 наведені результати гідрохімічного аналізу складу водного середовища в культиваторі за сполуками азоту, який вимірювали паралельно з хроматографічним аналізом газоподібних метаболітів.

Таблиця 3.6 – Хімічний склад водного середовища в культиваторі в динаміці культивування іммобілізованої біомаси

Сполуки азоту, які контролювали	Концентрація азотовмісних сполук (мг/дм ³) в період відбору, доба					
	0	3	0	7	0	14

N-NH ₄	119,7	74,9	120,73	64,4	127,5	25,3
N-NO ₂	136,6	0,88	123,9	<0,03	100,1	<0,03
N-NO ₃	7,34	2,55	18,81	<0,5	7,02	1,87

З даних табл. 3.6 видно, що на поліетиленовому носії сформувався мікробіоценоз, який в аноксидних умовах видаляє з водного середовища N-NH₄, N-NO₂ та N-NO₃. А за даними аналізу газоподібних метаболітів це видалення відбувається в результаті утворення газоподібного молекулярного азоту. Накопичення газоподібного азоту може свідчити про наявність в водному середовищі мікроорганізмів збудників денітрифікації та апаттох-процесу. Проте для активної денітрифікації потрібні органічні субстрати (а вони були відсутніми в живильному середовищі) і значно вищі концентрації нітратів. Таким чином, виходячи з розробок Гвоздяка та Сапури [156] можна зробити висновок, що в досліджуваному іммобілізованому мікробіоценозі присутні апаттох-бактерії.

Отже проведені фізіологічні дослідження розчинних у стічній воді метаболітів іммобілізованого мікробіоценозу та газоподібних метаболітів свідчать про наявність в досліджуваному азоттрансформуючому мікробіоценозі таких еколого-трофічних груп як амоніфікуючі, АОБ (можливо АОА), НОБ і апаттох-бактерії.

3.2.3 Біохімічні дослідження мікробного складу іммобілізованої біоплівки лабораторної установки (інгібіторні експерименти)

Інгібіторні експерименти виконували з двома видами іммобілізованої в біодисковій установці біоплівки: перший вид формувався протягом 3 – 4 тижнів при обробці стічної води, яка містила органічні речовини, ХСК 250 – 400

мг/дм³, другий вид формувався протягом аналогічного терміну в модельних стічних водах, які не містили органічних речовин (табл. 2).

Застосування інгібіторів базувалось на відомих впливах певних сполук (в тому числі відомих специфічних інгібіторах нітрифікації АОБ – тіосечовина, піразол) на ключові етапи метаболізму АОБ, АОА, денітрифікуючих бактерій (гетеротрофної мікрофлори) та апаттох-бактерій [159], надані в табл. 3.7.

Таблиця 3.7 – Вплив інгібіторів на мікробіологічні перетворення сполук азоту та активність деяких ферментів азоттрансформуючих мікроорганізмів

Мікробіологічні перетворення сполук азоту та активність ферментів	Інгібітори, що впливають			
	Тіосечовина	Піразол	Гідразин	Гідроксиламін
Амоніфікація	-	-	-	+++
Нітрифікація I фази (АОБ)	+++	+++	++	!
Нітрифікація АОА	+++	+++	-	Не відомо
Нітрифікація II фази	-	-	-	-
Апаттох	Не відомо	Не відомо	-	+++
Деамонізація	+++	+++	++	!
Денітрифікація	-	-	-	+++
Монооксигеназа аміаку	+++	+++	-	
Гідроксиламіноксидоредукт аза	+++	+++	+++	!
Оксидоредуктази гетеротрофного метаболізму	-	-	-	+++

Примітки: +- пригнічує слабо, ++-пригнічує активно, +++- пригнічує дуже активно, - не впливає, !- підсилює.

Результати власних досліджень впливу деяких інгібіторів на ферментативну активність активно нітрифікуючої іммобілізованої біоплівки представлено в табл. 3.8.

Таблиця 3.8 – Вплив інгібіторів на біохімічні показники активного мулу

Варіанти інкубації	Питома швидкість окиснення N-NH ₄ , мг/Г _{без} реч·ГОД	Зміна активності оксиредуктази, %			
		Каталази	Дегідрогінази	Пероксидази	Гідроксиламіноксидоредуктаза
З введенням піразолу	0	+72,5	+85,7	-80,0	-100
З введенням гідразину	0	+132,0	+149,0	-106,0	-100
З введенням гідроксиламіну	3,2	-43,5	-55,4	+51,2	+100

Як видно, піразол та гідразин надзвичайно пригнічували гідроксиламіноксидоредуктазу (ключовий фермент першої фази нітрифікації АОБ). А гідроксиламін активно пригнічував оксидоредуктази гетеротрофного метаболізму.

В першій серії інгібіторних експериментів, які виконували з іммобілізованою біоплівкою, що сформувалась в присутності органічних речовин в середовищі, в інкубаційне середовища дослідів вносили висококонцентровану стічну воду до досягнення ХСК 20 – 30 мг/дм³. Інкубаційне середовище мало наступний склад: N-NH₄ – 10,74; N-NO₂ – 2,12; N-NO₃ – 4,91, N_{орг.} – 0,25 – 5,0 мг/дм³. Введення гідроксиламіну збільшувало концентрацію N-NH₄, що орієнтовно враховували при розрахунках.

Розглядаючи результати експерименту, користувались визначенням наступних показників:

- Загальна концентрація сполук азоту
- Динаміка концентрацій N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃.

Зменшення загальної концентрації сполук азоту в інгібіторних експериментах було можливим лише за рахунок виділення газоподібного азоту, оскільки за час інкубації (4 год) та при наявних ХСК асиміляція N-NH₄ не могла перевищувати

0,5 мг/дм³. Усереднені дані з чотирьох паралельних експериментів з застосуванням 3 інгібіторів наведено в табл. 3.9.

Таблиця 3.9 – Результати інгібіторного експерименту в інкубаційному середовищі з органічним субстратом

Показники контролю	Зміна концентрацій (%/(мг/дм ³)) при інкубації з інгібіторами				
	Холостий дослід	Без інгібіторів (контроль)	Тіосечовина	Гідразин	Гідроксиламін
N-NH ₄	-89,0	-67,3	+11,9	-17,3	-45,1
N-NO ₂	+74,0	+47,1	-15,0	+48,1	+81,3
N-NO ₃	-50,1 (-2,7)	-42,1(-0,3)	-43,0 (-1,9)	-16,1 (-0,7)	-25,2 (-0,9)
Загальна конц. N	-54,0 (-1,9)	-15,2 (-2,6)	-13,1(-1,9)	-8,9 (-0,5)	-7,2 (-2,1)

Як видно з представлених даних, в контрольному варіанті досліді активно відбувалась деамонізація середовища, причому, за рахунок першої фази нітрифікації: концентрація N-NH₄ зменшувалась і практично пропорційно зростала концентрація N-NO₂. Видалення азоту було зумовлено денітрифікацією (практично співпадають баланси мас за N_{заг.} та N-NO₃).

В варіанті досліді з додаванням тіосечовини, яка інгібує метаболізм АОБ та АОА видалення N-NH₄ не відбувалось. Навпаки, концентрація N-NH₄ дещо зростала внаслідок амоніфікації органічних субстратів. Отже метаболізм апаттох-бактерій не проявлявся. Концентрація N-NO₂ зменшувалась незначно, вірогідно, в результаті II фази нітрифікації. При цьому концентрація N-NO₃ не збільшувалась, а навпаки дещо зменшувалась, вірогідно, внаслідок активної денітрифікації, яку спостерігали і в контрольних варіантах. Вміст загального азоту в воді зменшувався, але незначно, та за балансом мас був зумовлений денітрифікацією.

В варіанті досліду з додаванням гідразину, який інгібував АОБ, концентрація N-NH₄ в результаті інкубації була дещо нижче ніж в варіанті з інгібуванням тіосечовиною. Ефективність видалення N-NH₄ суттєво зменшувалась порівняно з контролями, і не перевищувала 10% цього показника в контрольному варіанті. В присутності гідразину і відсутності активності апаттох-процесу така деамонізація може бути зумовлена метаболізмом АОА. Динаміка концентрації N-NO₂ (підвищення концентрації при інгібуванні АОБ) та порівняння її із зменшенням концентрації загального азоту також свідчать про наявність метаболізму АОА.

В варіанті з додаванням гідроксиламіну, який пригнічує гетеротрофні процеси (амоніфікацію і денітрифікацію) та метаболізм апаттох-бактерій, спостерігали дуже активну нітрифікацію (дуже активне зростання концентрації N-NO₂) АОБ, а можливо і АОА. Вихідну концентрацію N-NH₄ в цьому варіанті досліду не визначали, а її розрахування утруднювалось непевністю ступеню гідролізу гідроксиламіну.

Таким чином, в першій серії інгібіторних експериментів, які виконували з іммобілізованою біоплівкою, що сформувалась в присутності органічних речовин в середовищі, в біоплівці виявлено активність АОБ, АОА, НОБ та денітрифікуючих бактерій.

Другу серію інгібіторних експериментів виконували з іммобілізованою біоплівкою, що сформувалась в мінеральному середовищі за відсутності органічних речовин. Інкубаційне середовище мало наступний склад (мг/дм³): N-NH₄ – 10,74; N-NO₂ – 2,12; N-NO₃ – 4,91. Інкубацію виконували протягом 2 год. Усереднені дані з трьох паралельних експериментів з застосуванням 3 інгібіторів надані в табл. 3.10, 3.11.

Таблиця 3.10 – Результати інгібіторного експерименту в інкубаційному середовищі без органічних субстратів

Показники контролю	Зміна концентрацій (%/(мг/дм ³)) при інкубації з інгібіторами		
	Контроль (без інгібіторів)	Тіосечовина	Гідроксиламін
N-NH ₄	-20,2	-27,0	-28,7
N-NO ₂	-5,3	+15,3	-26,2
N-NO ₃	-27,1(-0,9)	-64 (-2,2)	+81,0 (+81,1)
Загальна конц. N	-16,4 (-7,1)	-15,2 (-7,0)	-8,6 (-4,3)

Необхідно відмітити, що в цьому експерименті збіжність результатів в паралельних експериментах була дуже високою, що можна віднести на рахунок виключення зі складу інкубаційної суміші стічних вод, які мають досить невизначений склад.

Як видно з наведених даних, в контрольному варіанті відбувалась деамонізація середовища, причому, концентрація N-NO₂ та N-NO₃ не зростала. Звичайно, процеси денітрифікації в середовищі без органічних речовин були суттєво пригнічені. Зменшення концентрації азотвмісних сполук майже у 8 разів перевищувало видалення азоту в результаті денітрифікації, що свідчить про наявність видалення азоту в апаттох-процесі.

При інгібуванні метаболізму АОБ та АОА тіосечовиною деамонізація порівняно з контролем підсилювалась. Зменшення концентрації азотвмісних сполук більш ніж у 3 рази перевищувало видалення азоту в результаті денітрифікації, що свідчить про наявність видалення азоту в апаттох-процесі.

При інгібуванні апаттох-бактерій гідроксиламіном спостерігалось накопичення нітратів, вірогідно в результаті високої активності другої фази нітрифікації (НОБ). Проте відбувалось певне видалення азоту з інкубаційного середовища. Яке можна віднести тільки на рахунок нітрифікації та автотрофної денітрифікації.

В цілому, інгібування АОБ і АОА підсилювало апаттох-процес, а інгібування апаттох-процесу підсилювало активність нітрифікації АОБ і АОА.

В табл. 3.11 представлено дані інгібіторного експерименту, який виконували з іммобілізованою біоплівкою, що сформувалась в мінеральному середовищі при відсутності органічних речовин, при додаванні інгібітора АОБ піразола. Склад інкубаційної суміші (мг/дм³): N-NH₄ – 89,3; N-NO₂ – 21,57; N-NO₃ – 5,86.

Як видно, в цьому експерименті концентрація N-NH₄ була підвищена приблизно в 8 разів, а концентрація N-NO₂ – майже в 10 разів.

Таблиця 3.11 – Результати інгібіторного експерименту в інкубаційному середовищі без органічних субстратів

Показники контролю	Зміна концентрацій (%/(мг/дм ³)) при інкубації з інгібіторами		
	Контроль (без інгібіторів)	Піразол	Гідроксиламін
N-NH ₄	-14,1	-10,8	-4,3
N-NO ₂	+1,0	+1,1	-4,0
N-NO ₃	+24,0 (+1,8)	-33,0 (-2,0)	+9,0 (+0,5)
Загальна конц. N	-9,3 (-12,4)	-10,2 (-13,1)	-3,9 (-5,2)

Як видно з наведених даних, деамонізація в контрольному варіанті була менш активною, ніж в попередньому експерименті. Нітрити практично не накопичувались. Нітрати накопичувались в умовах пригнічення денітрифікації за відсутності органічних субстратів. Загальна концентрація азоту в інкубаційному середовищі зменшувалась, що може свідчити про наявність апаттох-процесу.

При введенні в інкубаційне середовище піразолу деамонізація зменшилась, нітрити не накопичувались, а денітрифікація активізувалась. Зменшення концентрації загального азоту було практично таким самим, як і в контрольному варіанті. В середовищі з гідроксиламіном деамонізація була слабкою, накопичення нітритів не відбувалось, відбувалось невелике

накопичення нітратів. Видалення загального азоту за умови пригнічення апаттох-процесу було можливим тільки в процесах денітрифікації.

Цікаво, що сума ефектів деамонізації в варіантах дослідів з інгібуванням нітрифікації та апаттох-процесу практично дорівнює ефекту деамонізації в контрольному варіанті.

Таким чином, в другій серії інгібіторних експериментів, які виконували з іммобілізованою біоплівкою, що сформувалась при відсутності органічних речовин в інкубаційному середовищі, в біоплівці виявлено високу активність апаттох-бактерій, АОБ (можливо АОА), слабку активність НОБ та денітрифікуючих бактерій.

3.3 Взаємовідношення еколого-трофічних груп мікроорганізмів в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі

Поміж апаттох-бактеріями, нітрифікаторами, денітрифікаторами та іншими мікроорганізмами, які тісно співіснують в біоплівках, встановлюються міжвидові відносини, засновані на просторовому і субстратному синергізмі та конкуренції [35]. Звичайним є співіснування апаттох-бактерій і АОБ. Останні екранують чутливих до кисню апаттох-бактерій під час аеробних циклів роботи біореактора і забезпечують їх нітритом. Вважається, що при формуванні біоплівки *de novo* першими з'являються саме нітрифікатори, що формують первинну біоплівку з анаеробними мікронішами, які пізніше заселяються апаттох-бактеріями. Конкуренція за простір і нітрит виникає між апаттох-бактеріями, денітрифікаторами і нітритокіснючими бактеріями (НОБ).

Результати проведених експериментальних досліджень дозволяють представити трофічні взаємовідносини еколого-трофічних груп мікроорганізмів в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі у вигляді наступної схеми (рис. 3.2).

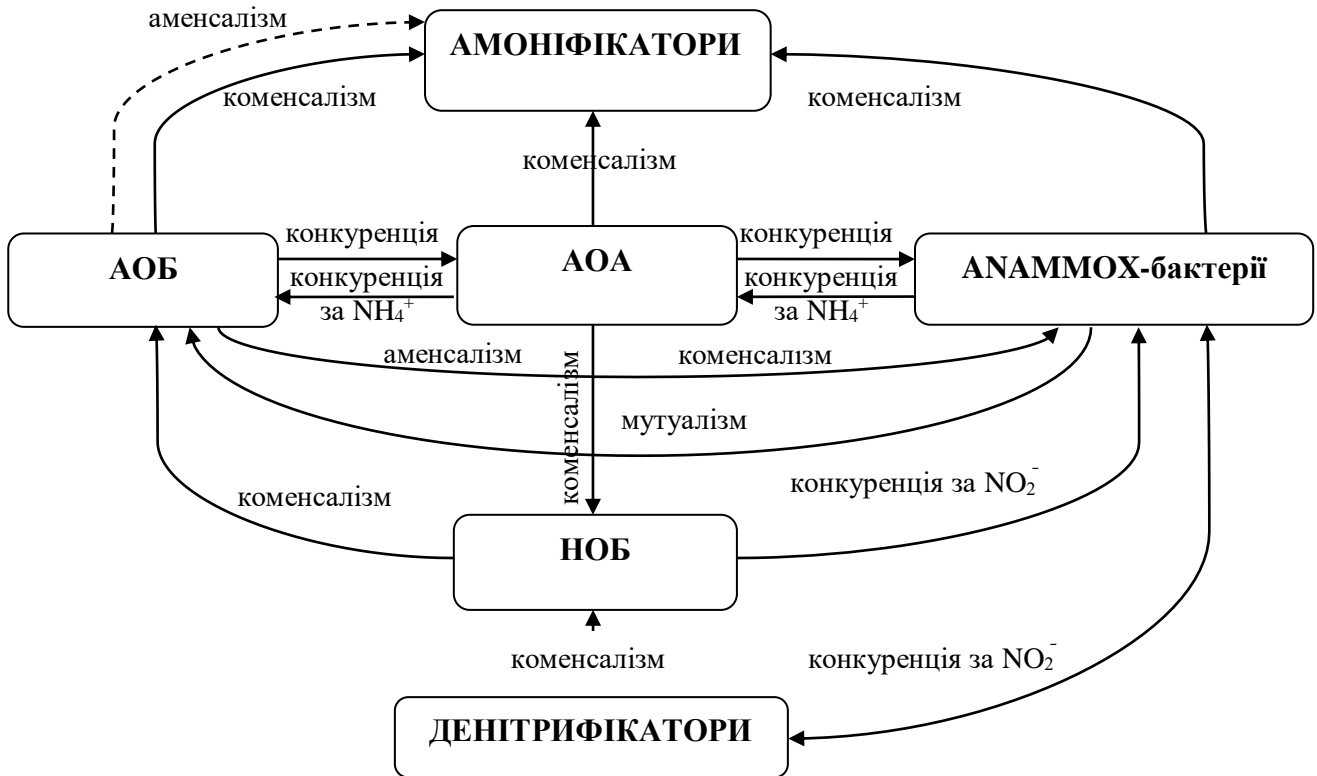


Рисунок 3.2 – Схема трофічних відносин між еколого-трофічними групами мікроорганізмів в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі

Як видно, між АОБ, АОА та апамтох-бактеріями існує конкуренція за N-NH_4 . Причому між АОБ (й АОА) та апамтох-бактеріями формується мутуалізм, оскільки АОБ і АОА забезпечують апамтох-бактерій нітритами (коменсалізм) і екранують їх в біоплівці від впливу кисню. За нітрит в дослідженому мікробіоценозі конкурують НОБ, апамтох-бактерії та денітрифікуючі бактерії. Причому метаболізм НОБ переважає в аеробних умовах, а апамтох-бактерій та денітрифікуючих бактерій – в анаеробних умовах. В дослідженому мікробіоценозі формуються також відносини за типом аменсалізму, коли одні мікроорганізми пригнічують розвиток інших. Наприклад, АОБ пригнічують розвиток гетеротрофної мікрофлори (амоніфікуючих та денітрифікуючих) та апамтох-бактерій внаслідок певного викиду в середовище гідроксиламіну. В присутності азотвмісних органічних речовин між амоніфікуючими бактеріями та АОБ, АОА і апамтох-бактеріями

існують відношення мутуалізму, оскільки амоніфікуючі бактерії забезпечують АОБ, АОА та апамтох-бактерій $N-NH_4$.

Просторові відносини азоттрансформуючих еколого-трофічних груп формуються в іммобілізованому мікробіоценозі наступним чином (рис. 3.3):

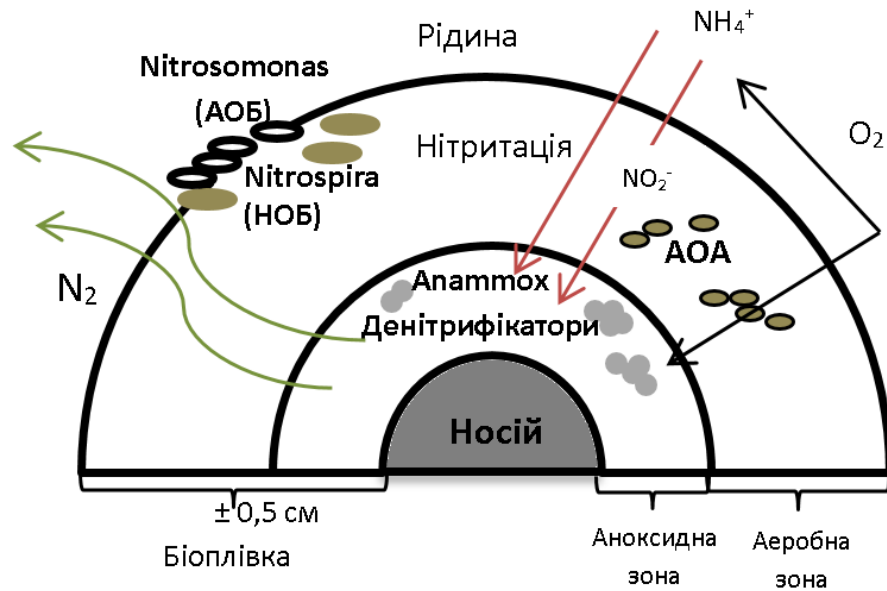


Рисунок 3.3 – Біоценоз іммобілізованої біоплівки в експериментальному біореакторі

– в поверхневому шарі біоплівки в аеробних умовах розвиваються облигатні аероби АОБ, АОА, НОБ, та аеробні гетеротрофні деструктори органічних речовин (в тому числі амоніфікатори), а в анаеробних умовах ці групи є просторовими конкурентами;

– в нижньому шарі біоплівки розвиваються анаеробні мікроорганізми – апамтох-бактерії та денітрифікуючі. Хоча останні в абсолютній більшості можуть активно розвиватись в аеробному середовищі, але дисиміляційну нітратредукцію здійснюють лише за умови відсутності в середовищі кисню. Отже між цими групами відбувається неповна конкуренція.

3.4 Вплив екологічних чинників на активність деамонізації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом в інгібіторних експериментах

Умови проведення інгібіторного аналізу [160] дозволили кількісно оцінити вплив на активність деамонізації інкубаційного середовища іммобілізованим мікробіоценозом двох екологічних чинників – наявності органічних сполук та концентрації N-NH₄.

В табл. 3.12 надані результати визначення ефективності видалення сполук азоту досліджуваним мікробіоценозом в присутності та за відсутності органічних речовин в інкубаційному середовищі при однаковій концентрації N-NH₄ (23,8 – 26,5 мг/дм³) та N-NO₂ (2,8 – 3,9 мг/дм³).

Таблиця 3.12 – Вплив органічного субстрату (ХСК ~ 50 мг/дм³) на активність видалення сполук азоту досліджуваним азоттрансформуючим мікробіоценозом

Варіант досліджу	Швидкість (мг N/год/мг/г с.р.) видалення сполук азоту	
	Деамонізації	Загального видалення усіх азотвмісних сполук
В присутності органічних сполук	1,22/0,65	1,02/0,54
За відсутності органічних сполук	2,13/1,14	3,32/1,77

Як видно з наведених даних, органічні сполуки ефективно (на 48,2%) інгібували деамонізацію інкубаційного середовища. Значно вищий інгібуючий ефект спостерігався в дії органічних сполук на загальне видалення азоту з водного середовища. В наших дослідках він складав 86,35%. Це, вірогідно, зумовлено повним інгібуванням органічними речовинами апаттох-процесу.

Вплив концентрації $N-NH_4$ на активність видалення сполук азоту досліджуваним азоттрансформуючим мікробіоценозом (за відсутності органічних сполук в інкубаційному середовищі) надано на рис. 3.4.

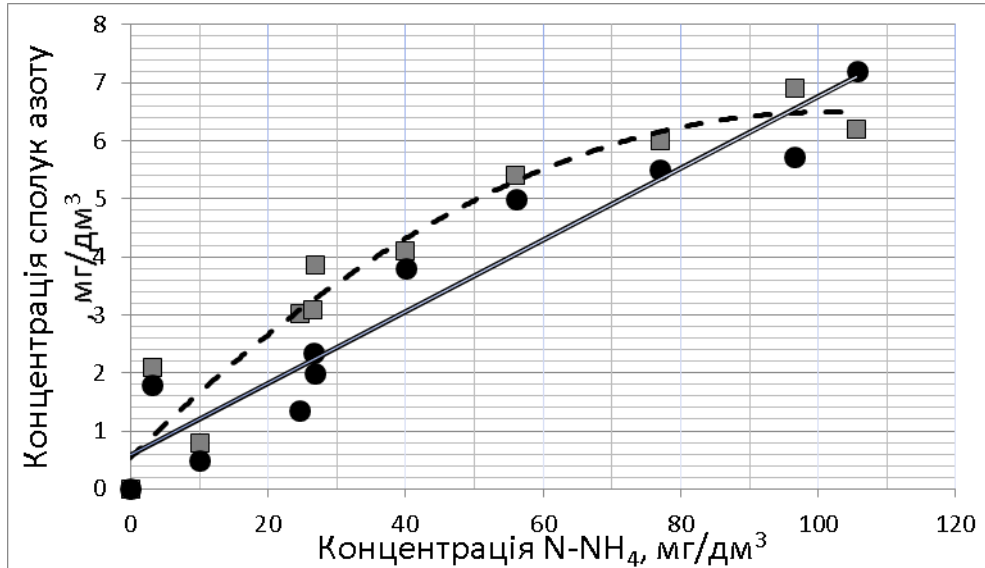


Рисунок 3.4 – Вплив концентрації $N-NH_4$ на видалення амонійного азоту (♦) та загального азоту з інкубаційної суміші (■)

Як видно, при збільшенні концентрації $N-NH_4$ швидкість деамонізації інкубаційного середовища зростає майже лінійно, а швидкість загального видалення азотвмісних сполук при концентрації $N-NH_4$ більше 100 мг/дм^3 дещо виположується. Можливо це зумовлено відсутністю інгібування нітрифікації при таких концентраціях $N-NH_4$ та частковим інгібуванням апамтох-процесу.

ВИСНОВКИ ДО ТРЕТЬОГО РОЗДІЛУ

1. Дослідження екології іммобілізованих мікробіоценозів очисної установки, що ефективно очищала стічні води від азотвмісних сполук як в присутності, так і за відсутності органічних речовин, включало три напрямки: визначення основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, що входять в азоттрансформуючий мікробіоценоз, визначення трофічних та просторових

відношень між цими групами, визначення кількісних показників впливу екологічних чинників на активність деамонізації та деазотації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом.

2. Мікробіологічні дослідження виявили в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі, сформованому в присутності органічних речовин, таких еколого-трофічних груп: амоніфікуючі, АОБ, денітрифікуючі та можливо апаттох-бактерії. Причому з суттєвою перевагою гетеротрофної мікрофлори – амоніфікуючих та денітрифікуючих бактерій.

3. Фізіологічні дослідження розчинених у стічній воді метаболітів іммобілізованого мікробіоценозу, сформованому в присутності органічних речовин, та газоподібних метаболітів свідчать про наявність в азоттрансформуючому мікробіоценозі таких еколого-трофічних груп як амоніфікуючі, АОБ (можливо АОА), НОБ і апаттох-бактерії.

4. В біохімічних дослідженнях (інгібіторних експериментах), які виконували з іммобілізованою біоплівкою, що сформувалась в присутності органічних речовин в середовищі, в біоплівці виявлено активність АОБ, АОА, НОБ та денітрифікуючих бактерій. В інгібіторних експериментах, які виконували з іммобілізованою біоплівкою, що сформувалась за відсутності органічних речовин в інкубаційному середовищі, в біоплівці виявлено високу активність апаттох-бактерій, АОБ (можливо АОА), слабку активність НОБ та денітрифікуючих бактерій. В цілому, інгібування АОБ і АОА підсилювало апаттох-процес, а інгібування апаттох-процесу підсилювало активність нітрифікації АОБ і АОА.

5. Результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що основними трофічними взаємовідносинами еколого-трофічних груп мікроорганізмів в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі є мутуалізм та конкуренція.

6. Органічні сполуки частково (на 48,2 %) інгібували деамонізацію інкубаційного середовища нітрифікацією та практично повністю інгібували

апаттох-процес, що зумовлювало значне пригнічення загальної деазотації середовища.

7. При збільшенні концентрації $N-NH_4$ до 110 мг/дм^3 швидкість деамонізації інкубаційного середовища, спричинене нітрифікацією, стало зростала, а апаттох-процес при концентрації $N-NH_4$ більше 100 мг/дм^3 частково інгібувався.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях [152, 153 та 160].

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКОЛОГІЧНИХ ЧИННИКІВ НА ПЕРЕТВОРЕННЯ АЗОТВІСНИХ СПОЛУК ІММОБІЛІЗОВАНИМ МІКРОБІОЦЕНОЗОМ ПРИ ОБРОБЦІ СТІЧНИХ ВОД В ЛАБОРАТОРНОМУ БІОРЕАКТОРІ У КОНТАКТНИХ УМОВАХ

4.1 Біологічні та технологічні характеристики іммобілізованого мікробіоценозу в лабораторній біодисковій установці

4.1.1 Теоретичні основи нарощування іммобілізованого мікробіоценозу та особливості його метаболізму

Біоплівка в біосорбційних очисних установках

Біоплівка – це складна формація, яка складається з біомаси іммобілізованих мікроорганізмів і органічних та мінеральних сполук, що потрапляють зі стічними водами і є джерелом живлення для мікроорганізмів. Кисень, який потрібний для окиснення забруднюючих речовин аеробними бактеріями, надходить в стічні води при розчиненні кисню атмосферного повітря в водній плівці під час знаходження ділянки біодиску поза водної зони та при перемішування води в цій зоні установки.

Біоценоз біоплівки на носіях є спільнота мікроорганізмів, основну частину якої становлять бактерії і, в незначній кількості, різні види найпростіших мікроорганізмів [161]. Найпростіші мікроорганізми безпосередньо не можуть окисляти органічну речовину, але вони споживають дрібні завислі речовини і бактерії біоплівки. Це сприяє омолодженню біоценозу і стимулює зростання іммобілізованих бактерій, також регулює загальну кількість вільноплаваючих бактеріальних клітин в очищеній воді [162].

При очищенні стічних вод, що містять різноманітні органічні та мінеральні речовини, у тому числі, сполуки азоту і фосфору, на твердих носіях шляхом автоселекції формується змішаний мікробіоценоз бактерій, який має

дуже великий спектр фізіологічних можливостей і стійкість до впливу зовнішніх факторів [163, 164]. Проте активність різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів залежить від багатьох екологічних чинників (складу та параметрів обробки стічних вод). За умови високого навантаження на мікробіоценоз за органічною речовиною і за амонійним азотом, спочатку розвиваються гетеротрофні мікроорганізми, які споживають органічні речовини (в тому числі і шляхом амоніфікації) [165, 166]. Потім при нестачі органічних сполук в аеробних умовах відбувається зміна біоценозу, в якому вже переважають оліготрофні та автотрофні бактерії, в тому числі нітрифікуючі. В анаеробних умовах розвиваються анаеробні та мікроаерофільні еколого-трофічні групи (в тому числі апаттох [167] та денітрифікуючі) (рис. 4.1).

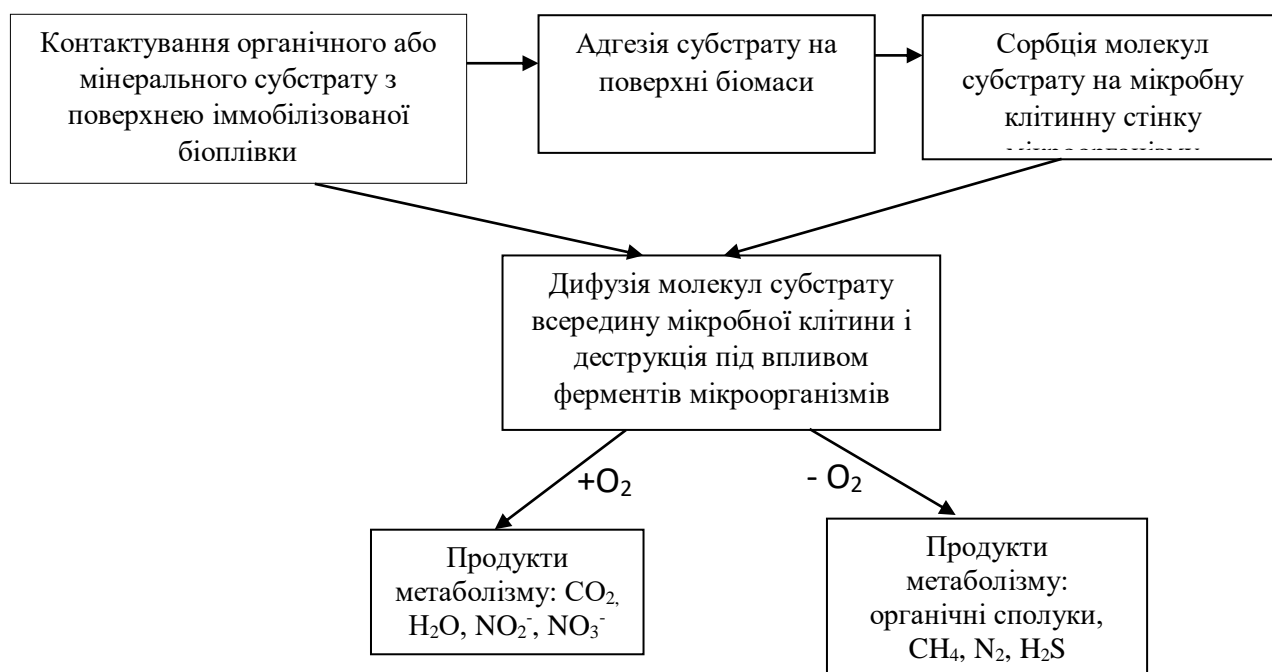


Рисунок 4.1 – Схема видалення забруднюючих речовин зі стічної води мікроорганізмами біоплівки

Іммобілізація являє біотехнологічну систему – біомаса-носій. Біомаса – це сорбований та адаптований біоценоз мікроорганізмів, рухливість яких штучно обмежена за рахунок прикріплення на носії. Носій – це матеріальна субстанція, яка з одного боку виконує функцію обмежувача руху

мікроорганізмів, а з іншого – надає їм ряд переваг щодо живлення та виживання. Причому надання таких переваг селективне – для певних еколого-трофічних груп, тобто матеріал носія і його форма є вагомими екологічним чинником формуванні іммобілізованого мікробіоценозу .

При іммобілізації клітин на поверхні носія поверхня біоплівки [168], що іммобілізована, або її частина, омивається стічною водою. При цьому споживання субстрату, кисню і виділення продуктів життєдіяльності мікроорганізмів визначаються переважно біологічними факторами: функціональними можливостями адаптованого мікробіоценозу щодо окиснення органічних забруднень, амонійного азоту і нітритів в наданих екологічних умовах.

Іммобілізована в експериментальному біореакторі біоплівка складається зі змішаного біоценозу мікроорганізмів, які мають різні фізіологічні та біохімічні особливості (розділ 3, рис. 3.3). В поверхневому шарі біоплівки в аеробних умовах розвиваються облигатні аероби – АОБ, АОА, НОБ та аеробні гетеротрофні мікроорганізми, а в нижньому шарі біоплівки розвиваються мікроаерофільні та анаеробні мікроорганізми, в тому числі – апаттох-бактерії та денітрифікуючі. Біоценоз іммобілізованої біоплівки першої зони під час контактування з рідинною фазою адсорбує забруднюючі речовини зі стічної води. В біодисковій установці під час контактування біоплівки з киснем атмосферного повітря створюються сприятливі умови для розчинення кисню у воді і біохімічного окиснення адсорбованих забруднюючих речовин. Біоценоз біоплівки в анаеробно/аноксидній зоні одержує енергію при руйнуванні хімічних зв'язків під час біохімічних реакцій в клітинах аноксидних і анаеробних мікроорганізмів (розділ 3, п. 3.2.2 та п. 3.2.3).

Нарощування і адаптування іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу

Нарощування і адаптування специфічного азоттрансформуючого мікробіоценозу полягає у селекції та переважному зростанні певних видів

мікроорганізмів, які здатні трансформувати сполуки азоту аж до його молекулярного стану. Щоб відбувалася селекція необхідна велика різноманітність вихідних видів мікроорганізмів інокуляту, здатних розвиватися в потрібних умовах. Адаптація мікроорганізмів відбувається паралельно селекції шляхом створення необхідних умов.

Як інокулят для селекції мікроорганізмів, що метаболізують сполуки азоту, використали активний мул біологічних очисних споруд. Вміст бактерій в активному мулі складає зазвичай $10^{10} - 10^{12}$ кл/г сух речовини, у тому числі бактерій, які нітрифікують сполуки азоту – $10^2 - 10^3$ кл/г сух речовини [169 – 171].

Необхідно підкреслити, що іммобілізований мікробіоценоз було призначено для глибокої очистки виробничих стічних вод – тобто видалення з них як органічних забруднень (сполук вуглецю), так і різноманітних азотвмісних сполук (як органічних так і неорганічних) – деазотацію. Як відомо процеси глибокого видалення сполук азоту здійснюють переважно автотрофні бактерії (нітрифікуючі та апаптох), які активно розвиваються лише після видалення органічних речовин. А гетеротрофні мікроорганізми при відсутності органічних субстратів активно гинуть. Тобто життєдіяльність цих автотрофів та гетеротрофів треба розділити за часом обробки, але при цьому зберегти активність кожної групи в несприятливих для їх розвитку умовах. Важливим інструментом рішення цієї дилеми є іммобілізація мікробіоценозу та просторовий розподіл цих груп в біоплівці.

В біодисковій установці використано плоский носій з полікарбонату, який забезпечував специфічні умови для формування біоплівки та насичення оброблюваної стічної води розчиненим киснем. Такий носій врівноважував швидкості росту гетеротрофної та автотрофної мікрофлори на рівні, який не допускав надто бурхливого росту гетеротрофної мікрофлори з пригніченням розвитку автотрофної мікрофлори. Надлишки біомаси не накопичувались на носії, а легко відшаровувались від біоплівки.

Слід відмітити, що біодиски є не тільки носіями біоценозу, але і аеруючим пристроєм. Диски виконують функцію мішалки, об'єкта сорбції та окислення забруднюючих речовин. Частота обертів дисків чине суттєвий вплив на процес очищення стічних вод. Але збільшення частоти обертів дисків має свої межі, бо настає той момент, коли відбувається стирання біоплівки та потужне розбризкування рідини. Як показали експериментальні дослідження, робота дисків в подібному режимі практично не збільшує швидкість вилучення азотвмісних забруднюючих сполук та з точки зору енергозбереження є недоцільною.

4.2 Концентрація біомаси в лабораторній біодисковій установці та її седиментаційні властивості

В експериментальних дослідженнях встановлено, що значення оптимальної частоти обертів дисків установки зростає зі збільшенням початкової концентрації забруднюючих сполук азоту і не впливає на процес очищення при досягненні максимальної швидкості вилучення забруднюючих речовин. Також в експериментальних дослідженнях відмічено, що при низькій частоті обертів дисків, відторгнута біоплівка осаджується та не приймає участі в процесі очищення і виноситься з біореактора. Оптимальна частота обертів, за якою проводились дослідження 11,6 об/хв, що регулюється перетворювачем частоти «CFM 210». Це значення, при якому іммобілізований мікробіоценоз, якщо і відторгається від носія, то підтримується у завислому стані і безпосередньо долучається до процесу очищення стічної води. Крім того, інтенсивність частоти обертів позначається на температурному стані стічної води, що очищується.

Комплексні (мікробіологічні, фізіологічні та біохімічні) дослідження біоплівки з біодискової установки показали наявність високої концентрації сапрофітів та усіх груп бактерій, які трансформують сполуки азоту і в комплексі можуть здійснити як деамонізацію стічних вод, так і її деазотацію –

амоніфікаторів, нітрифікаторів, АОБ, АОА, НОБ, апаптох-бактерій і денітрифікаторів (розділ 3). Відмічено, що в залежності від наявності органічних сполук в стічних водах, що оброблялись, відбувалася зміна складу мікробіоценозу та активність окремих еколого-трофічних груп.

Як відомо, окислювальна потужність споруд зростає зі збільшенням щільності біомаси, яка бере участь у процесах деструкції забруднюючих речовин. Пропорційність між швидкістю окиснення і біомасою мікроорганізмів існує до певної межі, вище якого питома швидкість окислення істотно знижується за рахунок погіршення масообміну, міжвидової і внутрішньовидової конкуренції, підвищення концентрації продуктів метаболізму. Іммобілізований мікробіоценоз витримує велике навантаження за органічними речовинами та сполуками азоту з одного боку, та брак поживних речовин, з іншого.

Під час проведення експериментів щільність біомаси в біореакторі в контактних умовах на дисках становила від 4,2 і до 7,6 г/дм³ при її екстремумах, в залежності від складу та властивості стічної води та присутності розчиненої органічної речовини в ній. У стічній воді, у завислому стані, знаходяться мікроорганізми, які потрапляють у рідинне середовище під час процесів сорбції-десорбції і з тих чи інших причин відкріплюються від біоплівки, але також беруть участь в процесах деструкції органічних сполук і сполук азоту. Так концентрація вільноплаваючої біомаси складала 2,5 г/дм³ в стічних водах, які оброблялись в біодисковій установці в контактних умовах. Тому загальна щільність активної біомаси становила від 6,7 до 10,1 г/дм³.

Разом з очищеною стічною водою з біореактора виноситься частина біомаси, аналогічно активному мулу на міських очисних спорудах. Але завдяки іммобілізації біомаси на носіях її винос був значне менше, ніж на традиційних очисних спорудах, що спричиняло суттєвому зменшенню об'єму осаду, який утворювався у вторинному відстійнику. Це дозволить значно зменшити об'єм вторинного відстійника.

Визначали седиментаційні характеристики біомаси, винесеної з біодискової установки, муловий індекс та швидкість осідання. Для цього біомасу, винесену з біодискової установки разом з обробленою стічною водою та відібрану мулову рідину з очисних споруд наливали в циліндри місткістю 1 дм³ та через кожні 3 хв. відзначали обсяг осадженої біомаси в см³, який вони займали. Через 30 хв. відстоювання виходячи з концентрації біомаси в вихідних сумішах визначали значення мулового індексу. Паралельно визначали швидкість осідання. У табл. 4.1 надані порівняльні седиментаційні характеристики активного мулу з міських очисних споруд і з біореактора.

Таблиця 4.1 – Порівняльні седиментаційні характеристики мікробіоценозів очисних споруд

Характеристика біомаси	Активний мул з відстійника міських очисних споруд	Біомаса, винесена з біодискової установки
Муловий індекс, мл/г сухої ваги	150	30 – 50
Швидкість осідання, мм/сек	0,55	4 – 6

Як видно, біомаса, винесена з біодискової установки, через високий вік порівняно з активним мулом та підвищену мінералізацію, мала швидкість осадження практично на порядок вищу ніж швидкість осадження активного мулу. Таким чином за двома факторами – об'ємом винесеної біомаси та швидкістю її осідання, використання біодискової установки замість обробки аналогічних стічних вод в аеротенку дозволяє більш ніж в десять разів зменшити об'єм вторинних відстійників. Це суттєво збільшує економічну привабливість застосованого способу обробки стічних вод.

4.3 Вплив екологічних чинників на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі у контактних умовах

4.3.1 Ефективність видалення азотвмісних забруднень

Дослідження в контактних умовах виконували для визначення характеристик (в тому числі кінетичних) перетворення сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом, ролі окремих екологічних чинників як керуючих дій цими процесами, участі окремих еколого-трофічних груп мікроорганізмів в процесах деамонізації та деазотації.

Серію з п'яти експериментів проводили в дисковому біореакторі. Контроль процесу здійснювали 6 разів: на 0, 1, 2, 3, 7 та 24 год обробки. В стічних водах визначали концентрації органічних забруднень та азотвмісних (органічних та неорганічних) сполук: ХСК [138], N-NH₄ [140], N-NO₂ [141], N-NO₃ [142], загального неорганічного азоту [144], білкового азоту, вільних амінокислот, розчиненого кисню (O₂) [143] та рН середовища [137].

Результати цих досліджень надані в табл. 4.2 та 4.3. Як видно з даних табл. 4.2, ХСК стічних вод на 24 год обробки стабільно зменшується до мінімальних концентрацій (на межі чутливості визначення).

Динаміка концентрацій N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃ на цей період свідчить про наявність процесу нітрифікації, причому як I, так і II фаз: концентрація N-NH₄ стало зменшується, а концентрація N-NO₃ – зростає (за виключенням перших 3 – 5 год обробки, коли концентрація N-NO₃ зменшується на 5,0 – 8,0 мг/дм³ за рахунок денітрифікації).

Таблиця 4.2 – Концентрації забруднень стічної води після обробки у лабораторному біореакторі іммобілізованим мікробіоценозом у контактних умовах (24 год)

№ досл.	ХСК вхід., мгО/дм ³	ХСК вихід., мгО/дм ³	Ефект. вид., ХСК %	N-NH ₄ вхід., мг/дм ³	N-NH ₄ вихід., мг/дм ³	Ефект. вид., N-NH ₄ %	N-NO ₃ вхід., мг/дм ³	N-NO ₃ вихід., мг/дм ³	Ефект. вид. N-NO ₃ , %	N-NO ₂ вхід., мг/дм ³	N-NO ₂ вихід., мг/дм ³	Ефект. вид., N-NO ₂ %	N _{орг} , мг/дм ³
1	985	<10	99,0	82,4	29,6	64,1	17,7	23,6	-25,0	7,4	1,7	77,0	15,1
2	1050	<10	99,1	66,1	19,4	70,64	15,0	25,5	-41,2	5,52	0,91	98,35	21,9
3	1067	<15	98,6	118,6	81,5	31,3	23,75	28,23	-15,9	8,01	2,16	73,0	17,5
4	1167	<15	98,7	98,16	64,12	34,7	17,3	26,4	-34,5	7,83	2,2	72,0	10,6
5	1215	<15	98,8	141,2	85,4	39,5	21,9	27,75	-21,0	6,92	1,15	83,4	14,4

Таблиця 4.3 – Вихідні дані для складання балансу азоту

№ досл.	ΔХСК, мгО/дм ³	ΔБСКп, мгО/дм ³	Сопряженне ΔN-NH ₄ , мг/дм ³	Реальне ΔN-NH ₄ , мг/дм ³	Δ(N-NH ₄ +N _{орг}), мг/дм ³	ΔN-NO ₂ , мг/дм ³	ΔN-NO ₃ , мг/дм ³	Δ(N-NH ₄ +N _{орг} + N-NO ₂ - N-NH ₄ спряж), мг/дм ³	Δ(N-NO ₃ + N-NO ₂ , денітрифікован) мг/дм ³
1	975	737,1	36,9	52,8	67,6	5,7	+11,6	30,7	19,6
2	1040	787,3	39,4	46,7	58,1	4,61	+10,5	18,7	18,5
3	1052	796,4	39,8	37,1	54,4	5,85	+4,5	14,6	12,5
4	1152	872,1	43,6	34,0	44,6	5,63	+9,1	1,0	15,1
5	1200	908,4	45,4	55,8	70,0	5,77	+5,9	24,6	13,9
̄x	1084	820,3	41,0	45,3	58,9	5,51	+8,32	17,9	15,9

За динамікою видалення забруднень зі стічної води в дисковому біореакторі іммобілізованим мікробіоценозом вираховували ефективність очищення води від сполук азоту та розчинених органічних сполук органічних забруднень [172]. Як видно з рис 4.2, середній ефект видалення N-NH₄ в серіях з 5 випробувань склав 58,9% при високих навантаженнях розчинених органічних сполук та високим ефектом видалення цих сполук – 98,8 %.

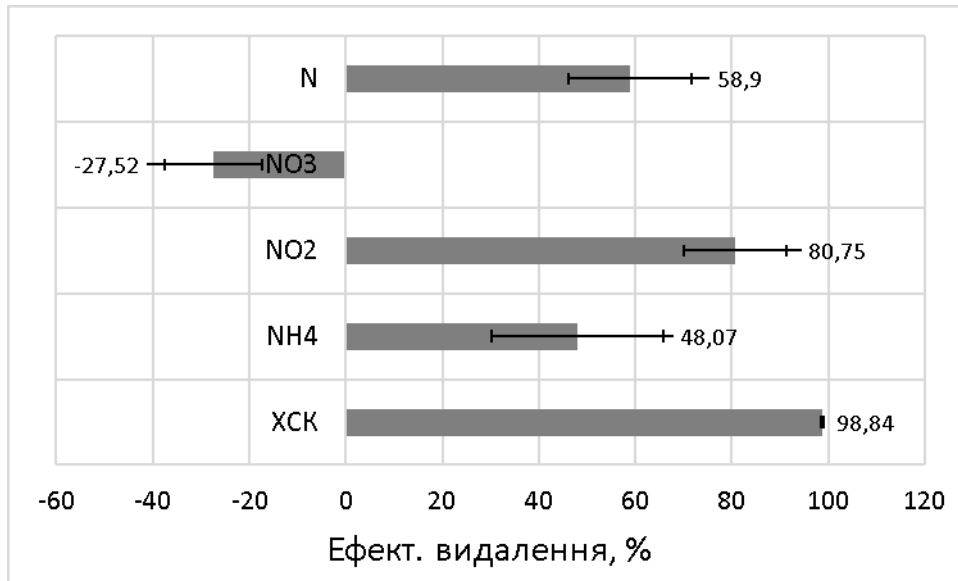


Рисунок 4.2 – Ефективність видалення забруднюючих речовин іммобілізованим мікробіоценозом біодискового реактора у контактних умовах

Розрахунок ефекту деамонізації та балансу азоту затруднювався наявністю в стічних водах органічних азотвмісних сполук. Якщо припустити, що весь органічний азот в процесі мінералізації перетворився в N-NH₄ (а через 24 год обробки його концентрація становила в середньому 1 мг/дм³), то загальний вміст перетворюваного N-NH₄ становив не 101,3, а 117,2 мг/дм³, а ефект деамонізації в процесі очистки – 57,6%. Розрахована за цими даними швидкість видалення N-NH₄ становить 4,2, N-NH₄ +Nорг – 4,9 мг/(дм³ год), а питома швидкість (з урахуванням, що беззольна вага біоплівки в установці становить 2,7 г/дм³) – 1,6 та 1,8 мг/(Г_{без} год) відповідно.

Як свідчить розрахунок, вхідне БСК₅ оброблюваних стічних вод становило 50,7 % ХСК. При умові, що БСК_п становить 67% БСК_п, в досліджуваних стічних водах БСК₅ складало 75,7 % ХСК. Розраховані обсяги знятого БСК_п представлені в табл. 4.3. Видалення N-NH₄ в процесах асиміляції органічних речовин зі стічних вод мікроорганізмами відбувається за співвідношенням БСК_п:N = 100:5. Отже, можливо розрахувати ΔN-NH₄, що пішов на асиміляцію. Як видно з даних розрахунків (табл. 4.3), загальна деамонізація – Δ(N-NH₄ + N_{орг}), суттєво перевищує кількість Δ(N-NH₄ спряженного, який видаляється при асиміляції. Можливо, ця різниця є кількість амонійного азоту, перетвореного в процесах нітрифікації. Апаттох-процес при таких високих концентраціях органічних речовин за даними науково-технічної літератури та даними власних досліджень (розділ 3) неактивний, але тривалий період обробки стічних вод (24 год) не дозволяє виключити його наявність.

Для прояснення цього питання розраховували баланс азоту. Для цього порівняли масу азоту, що видалявся понад деамонізації в процесах асиміляції – Δ(N-NH₄ + N_{орг} + N-NO₂ – N-NH₄ спряж) з прибутком окисненого азоту – ΔN-NO₃, враховуючи, що 5 – 8 мг/дм³ N-NO₃ видалялось на початку обробки шляхом денітрифікації (N-NO₃, денітрифікован.) (табл. 4.3). Як видно, баланси цих мас дуже близькі. Незначне перевищення маси видаленого азоту над масою азоту в N-NO₃ можна віднести як на рахунок апаттох-процесу, так і денітрифікації.

4.3.2 Вплив пріоритетного екологічного чинника – концентрації органічних речовин, на перетворення неорганічних азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при контактному режимі обробки стічних вод

До основних екологічних чинників, які впливають на склад та властивості іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозів, а також швидкість та ефективність видалення сполук азоту з стічних вод (деамонізацію та деазотацію), відносяться: розчинений кисень, реакція середовища рН,

температура стічної води та концентрація розчиненої органічної речовини за ХСК.

Динаміка ХСК при обробці азотвмісних стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом

Наявність органічних сполук в оброблюваних стічних водах можна віднести до найвпливовіших екологічних чинників деамонізації стічних вод (як в процесах нітрифікації, так і в апаттох-процесі). Проте досліджувані стічні води містили органічні речовини, а практична задача полягала в видаленні як органічних забруднень, так і в глибокому видаленні сполук азоту. Динаміка ХСК стічних вод в процесі обробки стічних вод в контактних умовах представлена на рис. 4.3.

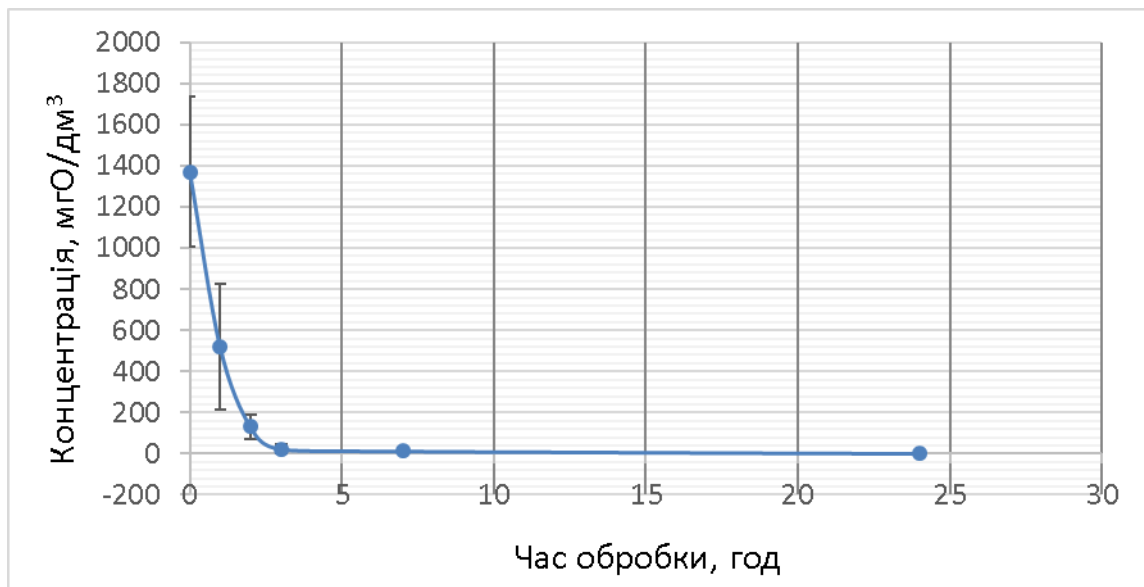


Рисунок 4.3 – Динаміка концентрації розчиненої органічної речовини за ХСК при контактному режимі обробки стічних вод

В цілому, як свідчать дані табл. 4.2, 4.3 та рис. 4.3, при контактному режимі обробки стічних вод найбільших змін зазнала саме концентрація органічних забруднень (ХСК). Іммобілізований мікробіоценоз активно видаляв органічні сполуки зі швидкістю до 320 – 500 мг ХСК/(дм³·год), в перші три години обробки. А після третьої години обробки концентрація органічної речовини в оброблюваних стічних водах (ХСК визначали арбітражним

методом) фіксувалась менше межі виявлення. Необхідно взяти до уваги, що активне видалення органічних субстратів зумовлено двома процесами: сорбцією молекул з суспендованих часточок та мікробіологічною деструкцією дифундованих в мікробні клітини молекул [173]. Ці процеси для різних органічних речовин по-різному розподілені за часом. Тому навіть при повному видаленні органічних сполук з водного середовища їх метаболізм та вивільнення неорганічних продуктів мікробіологічних реакцій (наприклад $N-NH_4$ при амоніфікації) в іммобілізованій біоплівці певний час продовжуються.

Динаміка концентрації загального неорганічного азоту

Подальші експериментальні дослідження особливостей перетворень сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом та впливу на ці процеси інших екологічних чинників виконували з огляду на найвпливовіший з них – концентрацію органічних речовин.

Експериментальні дослідження динаміки загальної концентрацій неорганічних сполук азоту при обробці модельних стічних вод молочного виробництва в контактних умовах показали, що цей показник (рис. 4.4) в першу годину обробки зменшується дуже поступово.

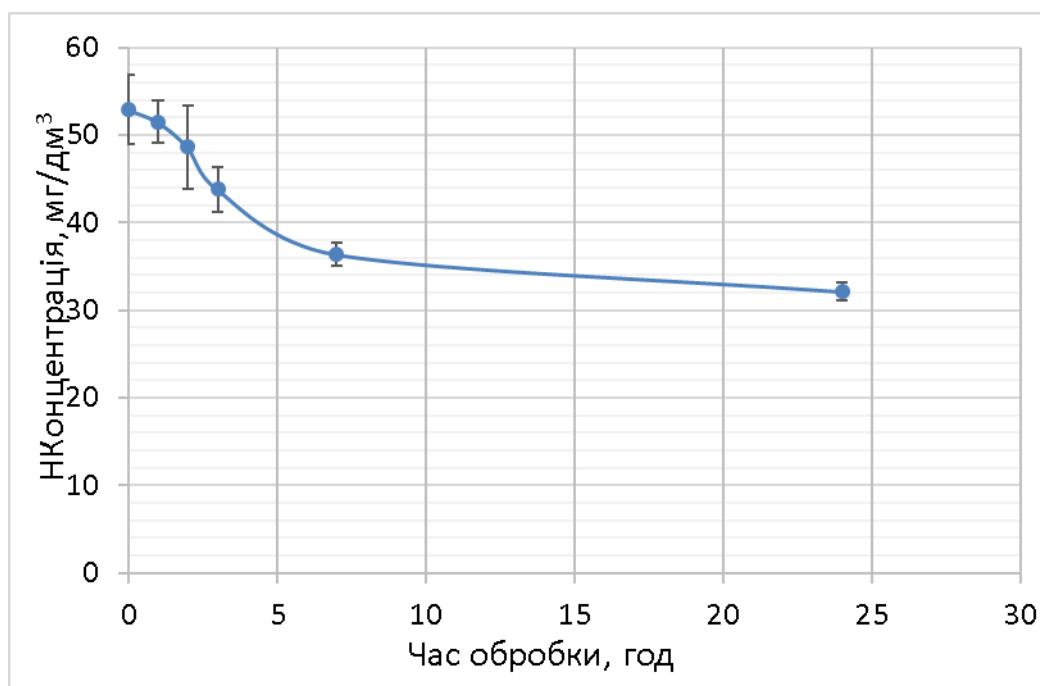


Рисунок 4.4 – Динаміка концентрації загального неорганічного азоту при обробці стічних вод у контактних умовах

Це зумовлено, напевно, видаленням певної частки $N-NH_4$, в процесах асиміляції та активним поповненням пулу неорганічних сполук азоту азотвмісними сполуками, що утворювались при мінералізації органічних азотвмісних сполук. При подальшій обробці (до 3 год) концентрація неорганічних сполук азоту дуже активно зменшувалась, а потім (до 24 год), після повного видалення органічних речовин видалення неорганічних сполук азоту відбувалось за дещо меншою швидкістю.

Як видно з динаміки $N-NH_4$ (рис. 4.5), в першу годину обробки стічних вод, коли відбувається і активна амоніфікація, що поповнює пул $N-NH_4$, і асиміляція $N-NH_4$, підсумкова концентрація $N-NH_4$ практично не змінюється (швидкість видалення $N-NH_4$ становить близько 0 мг N/год). При подальшій обробці концентрація $N-NH_4$ починає активно зменшуватись, причому вже не тільки за рахунок асиміляції, але й певної нітрифікації. З 1 до 2 години обробки швидкість видалення $N-NH_4$ зростає до 1,6 мг N /($дм^3 \cdot год$), а з 2 до 3 – до 2,3 мг N /($дм^3 \cdot год$). Після видалення органічної речовини за ХСК (3 год) деамонізація відбувається з постійною швидкістю, яка становить 0,9 мг/($дм^3 \cdot год$).

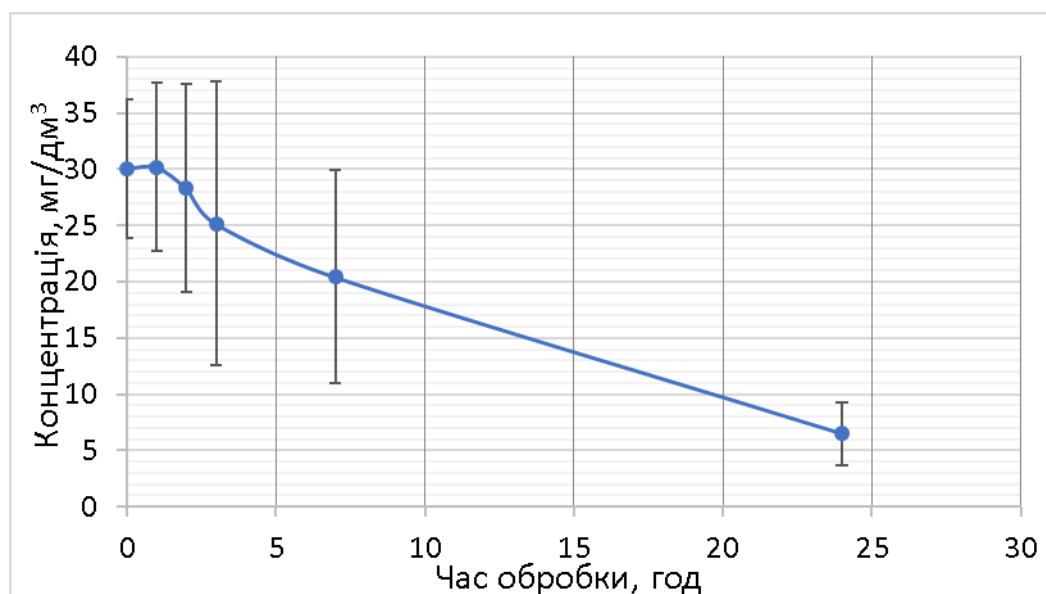


Рисунок 4.5 – Динаміка концентрації амонійного азоту при обробці стічних вод у контактних умовах

Необхідно брати до уваги, що в цей період відбувається певна амоніфікація сорбованих органічних азотвмісних речовин, що спричиняє надходження $N-NH_4$ в оброблювану стічну воду. Цей процес може зменшувати загальний ефект деамонізації стічної води.

Концентрація $N-NO_2$ в оброблюваних стічних водах практично не змінювалась до 3 год обробки (рис. 4.6), що було, напевно, зумовлено рівновагою двох протилежних процесів: накопичення $N-NO_2$ в результаті нітрифікації I фази та видалення нітритів в результаті нітрифікації II фази. А після 3 год обробки і видалення органічних речовин концентрація $N-NO_2$ починає активно зменшуватись, що пов'язано з активізацією II фази нітрифікації.

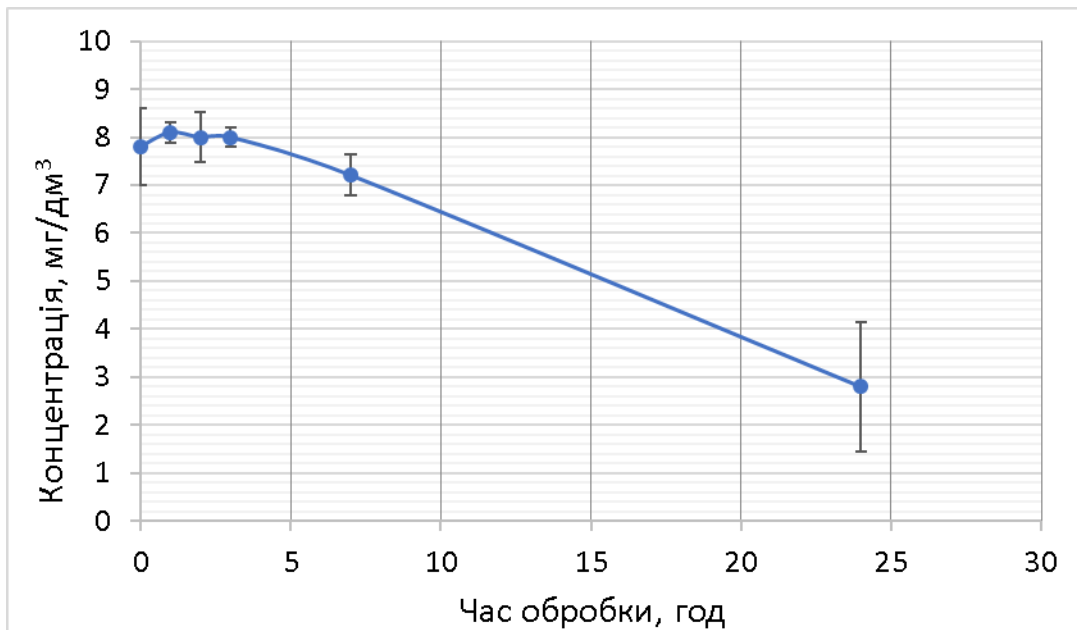


Рисунок 4.6 – Динаміка концентрації азоту нітритів при обробці стічних вод у контактних умовах

Концентрація $N-NO_3$ з початку експерименту і до 5 години обробки стічних вод зменшується (рис. 4.7). Оскільки при обробці стічних вод в біодисковій установці виконуються умови достатності як аеробної, так і

аноксидної (анаеробної) фази, при якій відбувається денітрифікація, то така динаміка $N-NO_3$, вірогідно, зумовлена саме процесами денітрифікації. Концентрація $N-NO_3$ починає збільшуватись після 7 годин обробки, причому синхронно зі зменшенням концентрації $N-NO_2$, який перетворюється в $N-NO_3$. Баланс мас – видалення $\Delta N-NO_2$ і накопичення $\Delta N-NO_3$, не співпадають: накопичення $N-NO_3$ суттєво перевищує видалення $N-NO_2$. Отже в даному випадку концентрація $N-NO_2$ є динамічним проміжним показником активності нітрифікації I та II фаз, а загальний вихід $N-NO_3$ контролюється сумою видалення $N-NH_4$ та $N-NO_2$. Причому останній висновок справедливий лише за умови відсутності процесу амоніфікації тобто після 3 – 5 год обробки.

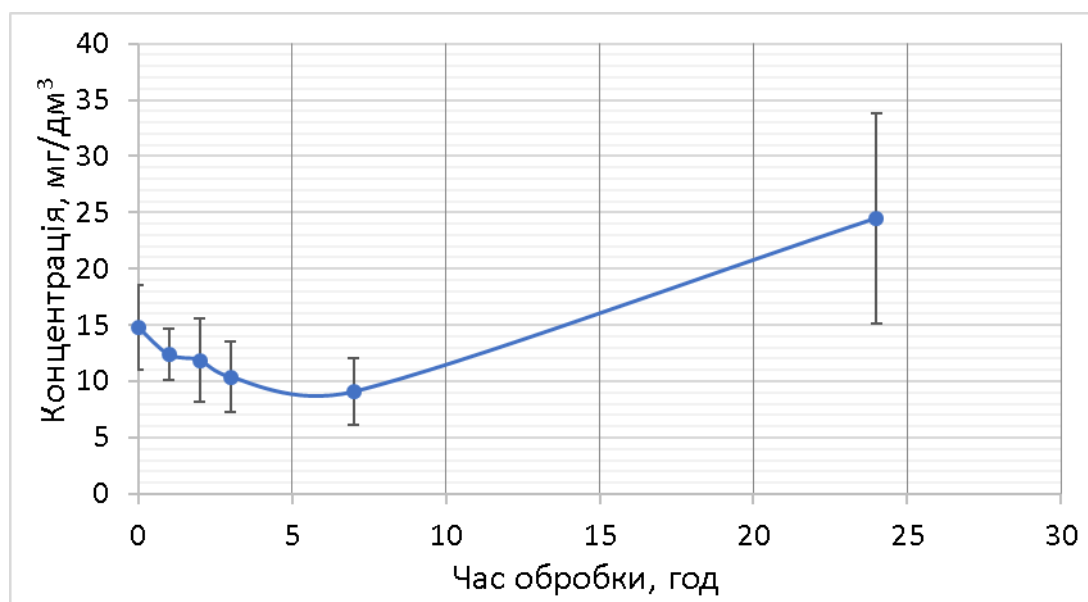


Рисунок 4.7– Динаміка концентрації азоту нітратів при обробці стічних вод у контактних умовах

Не можна також виключити і можливість апаттох-процесу в умовах відсутності органічних речовин в стічних водах (після 3 год обробки), але присутності достатньої кількості $N-NH_4$ та $N-NO_2$. До того ж концентрація розчиненого кисню в глибоких шарах мікробіоценозу, іммобілізованого на комірчастих поверхнях біодисків є оптимальною для цього процесу – 0,5 – 1,5 мг/дм³. І, можливо, після 3 год обробки саме такий спосіб деамонізації та

деазотації протікає в біодисковій установці паралельно з традиційними процесами нітрифікації.

Справедливість цих припущень дозволяє прояснити наступний розрахунок. Якщо розглянути динаміку перетворення неорганічних сполук азоту ($N-NH_4$, $N-NO_2$, і $N-NO_3$) при очищенні модельної стічної води в інтервалі після 7-ї години роботи до 24, тобто в період, коли органічні речовини вихідної стічної води були повністю мінералізовані, а весь органічний азот амоніфікований, то баланс сполук азоту виглядає наступним чином:

$$\text{Видалення з водного середовища} - \Delta N-NH_4 + \Delta N-NO_2 = 17,7 \text{ мг/дм}^3$$

$$\text{Накопичення в водному середовищі} - \Delta N-NO_3 = 16,5 \text{ мг/дм}^3$$

Як видно, видалено дещо більше азоту, ніж накопичено в $N-NO_3$. Проте різниця незначна ($< 10\%$) і вона може бути зумовлена, як слабкою денітрифікацією, слабким апаттох-процесом, так і, найвірогідніше, відхиленням в межах похибки вимірювання.

4.3.3 Динаміка екологічних чинників деамонізації та деазотації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом при обробці у контактному режимі

Аналіз результатів контролю керуючих екологічних чинників: концентрації розчиненого кисню, рН середовища та температури стічної рідини [174 – 176], при обробці в біодисковій установці у контактних умовах показав, що процеси деазотації та деамонізації, в першу чергу залежать від динаміки концентрації органічної речовини.

Як видно з даних рис. 4.8, в динаміці обробки стічних вод спостерігається активне зростання концентрації розчиненого кисню в водному середовищі з 1 по 3 год обробки модельних стічних вод, що кореспондується з терміном періоду розкладання та деструкції органічних сполук. Подальша мінералізація середовища при обробці стічних вод з 3 по 24 год сприяла ще деякому підвищенню концентрації кисню.

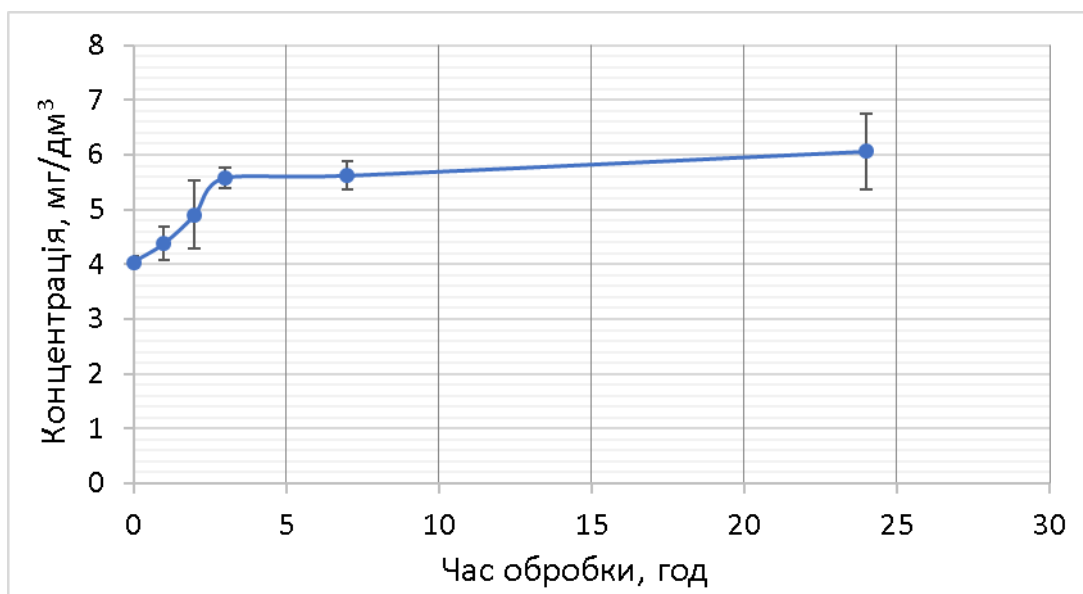


Рисунок 4.8 – Динаміка концентрації розчиненого кисню в водному середовищі при обробці стічних вод у контактних умовах

Як видно з рис. 4.9, з 1 по 3 год обробки стічної води відбувалось слабе підлужування водного середовища внаслідок надходження $N-NH_4$ при амонізації азотвмісних органічних сполук.

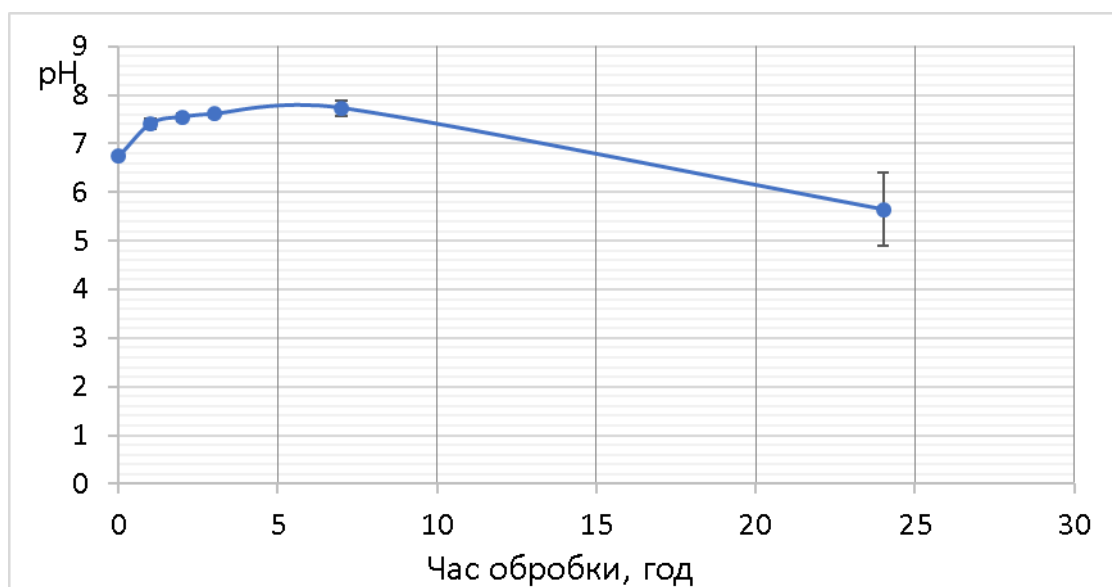


Рисунок 4.9 – Динаміка активної реакції середовища при обробці стічних вод в контактних умовах

Після видалення органічних сполук та їх глибокої мінералізації в біоплівці (5 – 7 год обробки) динаміка активної реакції середовища зміщувалась в кислий бік, що свідчить про наявність I, а головним чином II фази нітрифікації, які супроводжуються утворенням неорганічних кислот (особливо сильної неорганічної кислоти HNO_3).

У відношенні зміни рН стічної рідини, яка пройшла біохімічну очистку на лабораторній біодисковій установці, виявлені певні закономірності. При надходженні на очищення стічної рідини з рН 8,5 – 8,8 після обробки в біодисковій установці відбувається зниження рН до рівня 6,5 – 7,0. При надходженні стічної рідини зі значеннями рН 7,0 – 8,0 в процесі очищення відбувається зниження рН до значень 5,0 – 6,0.

Температурний режим, при якому проводили експериментальні дослідження знаходився в діапазоні 25 – 30 °С, що є оптимальним значенням для мезофільних мікроорганізми іммобілізованого біоценозу біодискової очисної установки (рис. 4.10).

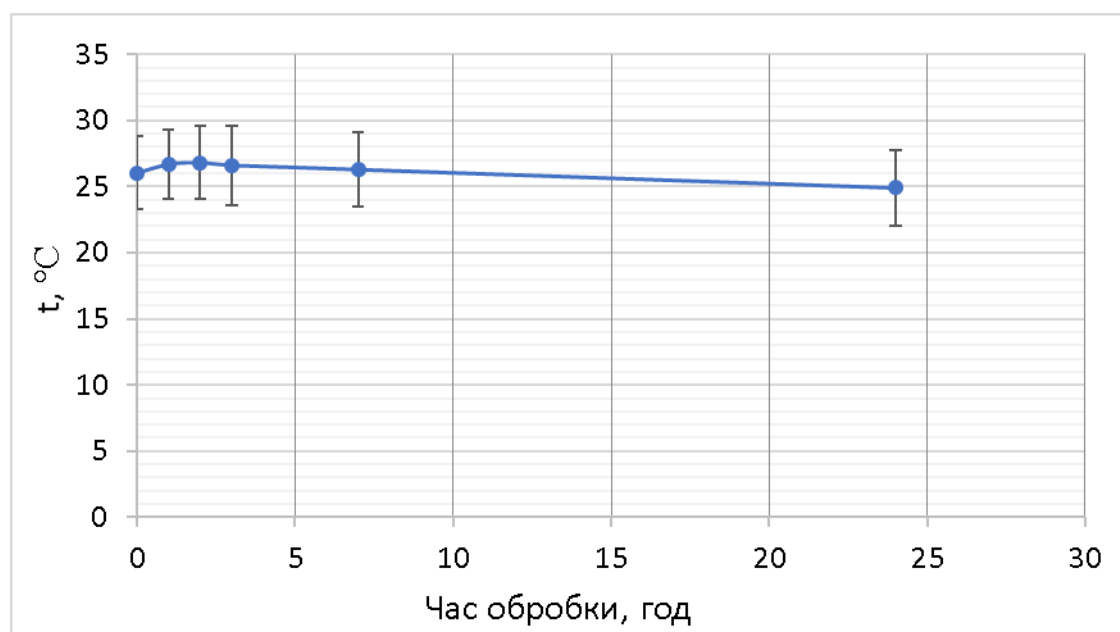


Рисунок 4.10 – Динаміка температури водного середовища при обробці стічних вод у контактних умовах

Відомо, що цей показник суттєво впливає на ріст та активність мікробіоценозів [177]. Цілеспрямовано в експериментальних дослідженнях при контактній обробці стічних вод цим показником не варіювали. Але на температурний режим в біодисковій установці впливало декілька чинників протилежного спрямування. В результаті контактування поверхні дисків з повітрям відбувається випаровування води, що призводить до охолодження стічної рідини приблизно на 1,5 – 2,0 °С. А контакт біодисків та стічної рідини в лотковій частині установки при перемішуванні з повітрям опалюваного приміщення сприяли певному підвищенню температури води, врівноважуючи охолодження при випаровуванні. Тому температурний режим обробки стічних вод в контактних умовах можна вважати постійним для даного дослідження.

4.3.4 Динаміка концентрацій органічних сполук азоту при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом у контактних умовах

За даними попередніх експериментальних досліджень встановлено, що ключовим екологічним чинником видалення неорганічних азотвмісних сполук з стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом є концентрація розчиненої органічної речовини. Вплив цього чинника можна спостерігати і при детальному вивченні динаміки концентрацій органічних сполук азоту – загального органічного азоту, азоту білків та амінокислот (рис. 4.11 – 4.13) при обробці модельних стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом у контактних умовах.

Як видно з даних рис. 4.11, в перші три години обробки концентрація органічного азоту активно зменшується, причому синхронно із зменшенням ХСК води (рис. 4.3).

Розрахунки на підставі одержаних експериментальних даних свідчать, що швидкість видалення азоту органічного іммобілізованим мікробіоценозом в цей

період складало $4,1 \text{ мг N}/(\text{дм}^3 \cdot \text{год})$. Через 7 год обробки азот органічний в оброблюваній стічній воді практично не виявлявся.

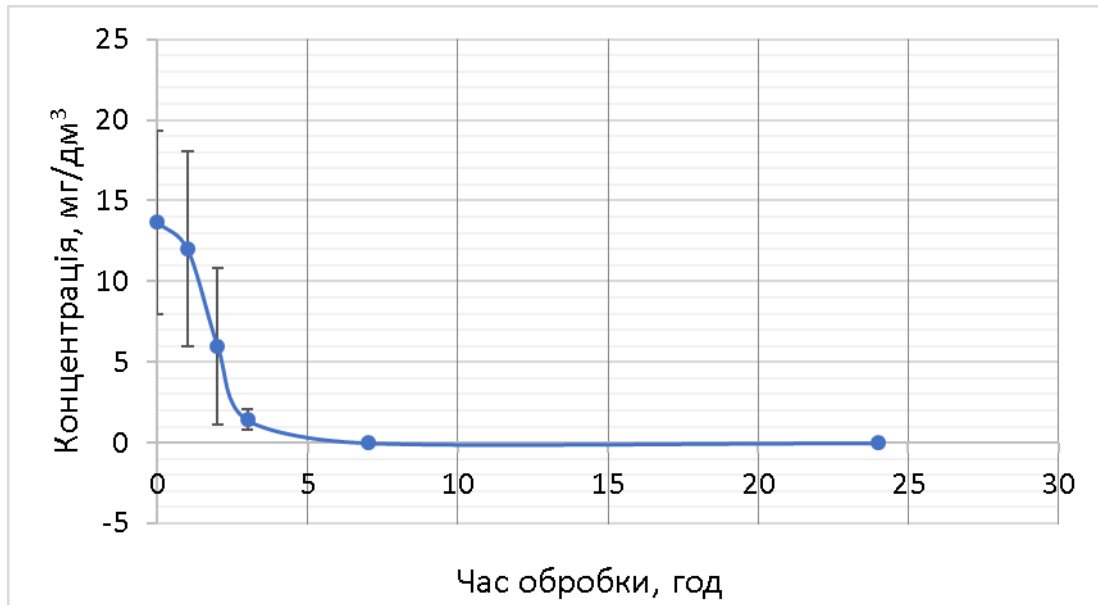


Рисунок 4.11 – Динаміка концентрація азоту органічного при обробці стічних вод у контактних умовах

Як видно з даних рис. 4.11 – 4.13, у вихідній воді в складі органічного азоту основною складовою були розчинні амінокислоти. Концентрація азоту білків не перевищувала 20%. Як показали експериментальні дослідження, в перші 3 год обробки (реперна точка повного видалення органічних речовин з стічної води) іммобілізований азоттрансформуючий мікробіоценоз повільно метаболізував азот білків (рис. 4.12).

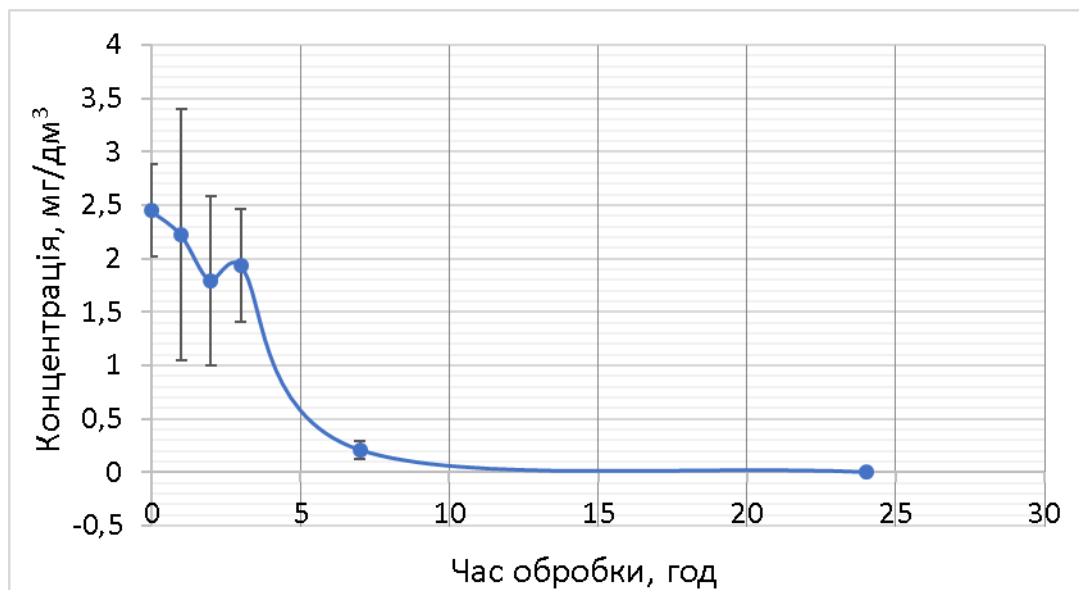


Рисунок 4.12 – Динаміка концентрації азоту білків при обробці стічних вод у контактних умовах

Більш активне зменшення концентрації азоту білків відбувалось з 3 по 7 год обробки, тобто вже після видалення органічних сполук з водного середовища, але при певному метаболізмі сорбованих органічних сполук іммобілізованим мікробіоценозом.

Як було зазначено, основна маса органічних сполук азоту в оброблюваних стічних водах припадала на азот вільних амінокислот. Їх концентрація на 1 год обробки дещо зростала внаслідок гідролізу білків та вивільнення амінокислот, а при подальшій обробці стабільно зменшувалась паралельно із зменшенням концентрації азоту білків (рис. 4.13).

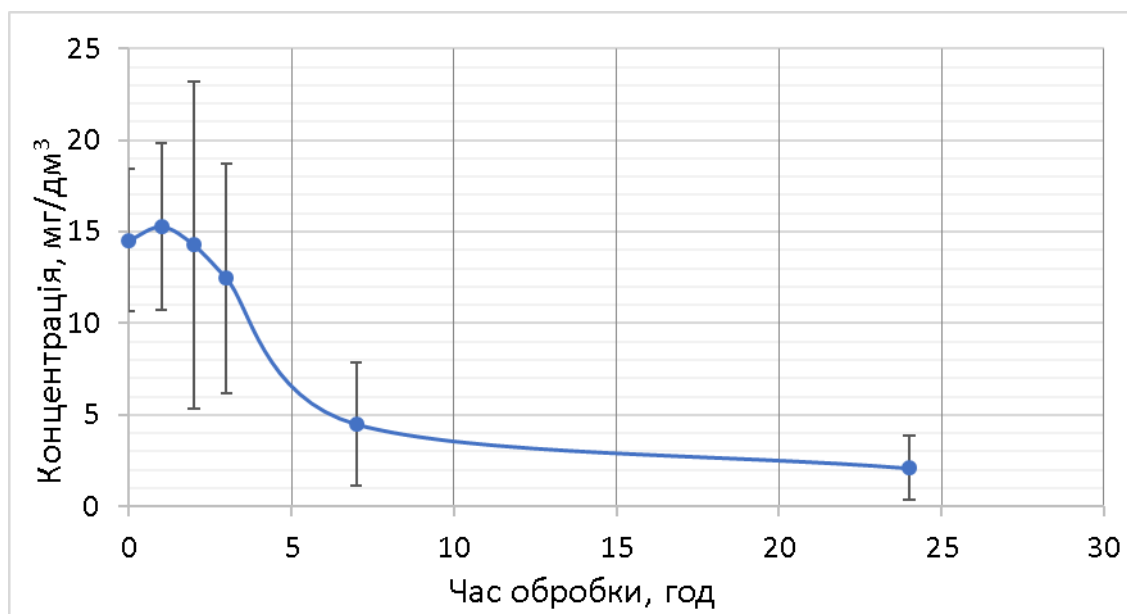


Рисунок 4.13 – Динаміка концентрації вільних амінокислот при обробці стічних вод у контактних умовах

Сумарна швидкість видалення азоту білків та вільних амінокислот з 3 год обробки стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом (після повного видалення органічної речовини) становить в сумі 3,2 мг N/(дм³·год). Залишкові концентрації вільних амінокислот після 7 години обробки становлять 0 – 4,0 мг/дм³.

Загалом концентрації органічних сполук азоту (в яких азот має ступінь окиснення -3), перетворених іммобілізованим мікробіоценозом, в 2 – 2,5 рази менші ніж концентрації перетворених неорганічних сполук азоту (зі ступенем окислення -3 та +3). Тобто метаболізм хемолітоавтотрофної мікрофлори (нітрифікуючої та, можливо, апамтох-бактерій) в досліджуваному іммобілізованому мікробіоценозі за напруженістю значно переважає метаболізм гетеротрофної мікрофлори. До того ж метаболізм хемолітоавтотрофної мікрофлори кардинально перетворює сполуки азоту, змінюючи валентність цього елемента (аж до +5), в той час як метаболізм гетеротрофної мікрофлори на валентність азоту в органічних сполуках (-3) не впливає.

ВИСНОВКИ ДО ЧЕТВЕРТОГО РОЗДІЛУ

1. При обробці стічних вод в біодисковій установці виконуються умови достатності як аеробної, так і аноксидної (анаеробної) фази. Біодиски є не тільки носіями біоценозу, але і аеруючим пристроєм. Диски виконують функцію мішалки, об'єкта сорбції та окислення забруднюючих речовин. Частота обертів дисків чине суттєвий вплив на процес очищення стічних вод.

2. За двома факторами – об'ємом винесеної біомаси та швидкістю її осідання, використання біодискової установки замість обробки аналогічних стічних вод в аеротенку дозволяє більш ніж в десять разів зменшити об'єм вторинних відстійників. Це суттєво збільшує економічну привабливість застосованого способу обробки стічних вод.

3. Дослідження з нарощування та адаптування специфічного азоттрансформуючого мікробіоценозу полягали у використанні автоселективного метода та застосування екологічних чинників як направляючих факторів добору для росту певних видів мікроорганізмів, які здатні трансформувати сполуки азоту аж до його молекулярного стану.

4. В процесі автоселекції просторовий розподіл еколого-трофічних груп мікроорганізмів в іммобілізованому мікробіоценозі відбувався таким чином, що у поверхневому шарі біоплівки в аеробних умовах розвиваються облигатні аероби – АОБ, АОА, НОБ та аеробні гетеротрофні мікроорганізми, а в нижньому шарі біоплівки розвиваються мікроаерофільні та анаеробні мікроорганізми, в тому числі – апаттох-бактерії та денітрифікуючі.

5. Ефект видалення $N-NH_4 + N_{орг}$ склав 57,6% при високих навантаженнях розчинених органічних сполук. Питома швидкість видалення $N-NH_4$ становить 1,6, $N-NH_4 + N_{орг}$ – 1,8 мг/(г_{без}·реч. год).

6. Дослідження впливу екологічних чинників: концентрації розчинного кисню, рН середовища, температури та концентрації органічної речовини, на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в контактних умовах показало, що найвагомішим фактором деамонізації та деазотації стічних вод цим мікробіоценозом є концентрація органічної речовини (ХСК).

7. Концентрація органічної речовини при обробці стічних вод в біодисковій установці протягом перших 3 год стрімко зменшується зі швидкістю до 320 – 500 мг ХСК/(дм³·год), а вже після 3 год обробки її залишкові концентрації, були на межі виявлення (<10 мг/дм³).

8. Динаміка концентрації розчиненого кисню при обробці стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом була прямо протилежною динаміці концентрації органічних сполук (ХСК) в системі: до 3 год обробки активно зростала.

9. Концентрація $N-NH_4$, в першу годину обробки стічних вод практично не змінювалась (внаслідок рівності швидкостей амонізації та асиміляції). При подальшій обробці концентрація $N-NH_4$ починає активно зменшуватись і після видалення органічної речовини (ХСК) (3 год) деамонізація відбувається з постійною швидкістю, яка становить 0,9 мг/(дм³·год).

10. Баланс мас – видалення ($N-NH_4 + \Delta N-NO_2$) і накопичення $\Delta N-NO_3$ – в інтервалі після 7-ї години обробки стічних вод до 24 год, коли органічні речовини стічної води були повністю мінералізовані, а весь органічний азот амоніфікований, практично співпадає. Це свідчить, що абсолютна більшість деамонізація відбувається шляхом нітрифікації. Анаптох-процес неактивний.

11. Концентрація азоту неорганічних сполук в досліджуваних стічних водах на початку обробки іммобілізованим мікробіоценозом в 3 – 3,5 рази перевищувала концентрацію органічних сполук азоту. А основна маса органічних сполук азоту в оброблюваних стічних водах припадала на азот вільних амінокислот. Активність видалення усіх органічних азотвмісних сполук (загального органічного азоту, білків, амінокислот) загалом позитивно корелювала з видаленням органічних сполук (ХСК).

12. Метаболізм хемолітоавтотрофної мікрофлори (нітрифікуючої та, можливо, анаптох-бактерій), що перетворює сполуки азоту зі ступенем окислення цього елемента -3 та +3, в досліджуваному іммобілізованому мікробіоценозі за напруженістю значно переважає метаболізм гетеротрофної мікрофлори, що перетворює органічні сполуки азоту зі ступенем окислення цього елемента -3.

Основні наукові результати розділу опубліковані в роботі [172].

РОЗДІЛ 5

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКОЛОГІЧНИХ УМОВ НА ПЕРЕТВОРЕННЯ АЗОТВМІСНИХ СПОЛУК ІММОБІЛІЗОВАНИМ МІКРОБІОЦЕНОЗОМ ПРИ ОБРОБЦІ СТІЧНИХ ВОД В ЛАБОРАТОРНОМУ БІОРЕАКТОРІ У ПРОТОЧНИХ УМОВАХ

5.1 Склад та характеристика стічних вод, які оброблялись в лабораторному біореакторі у проточних умовах іммобілізованим мікробіоценозом

Для дослідження видалення сполук азоту у проточних умовах стічна рідина подавалась перистальтичним дозуючим насосом в лоток біореактора з обертаючими дисками та проходила обробку іммобілізованим біоценозом, який адаптований під висококонцентровані стічні води з високим вмістом сполук азоту та розчинених органічних речовин.

До висококонцентрованих стічних вод відносять води підприємств молокопереробної промисловості, де в процесі переробки молока та миття технологічного обладнання, трубопроводів, тари і виробничих приміщень утворюються висококонцентровані стічні води [178], що містять нерозчинні пластівці білкових речовин, частинки жиру, розчинний молочний цукор, розчини білкових речовин, миючих та дезінфікуючих засобів. Найбільша частка в забруднених стоках на молокопереробних підприємствах припадає на молочну сироватку. ХСК сироватки, в залежності від якості молока, може досягати $60\ 000\ \text{мгО/дм}^3$, що істотно ускладнює очистку стічних вод. Якісні і кількісні характеристики стічних вод залежать від потужності підприємства і асортименту випущеної продукції. На підприємствах молокопереробної промисловості існує проблема очищення стічних вод від молочного цукру – лактози та молочного жиру, які дуже повільно розкладаються, створюючи перешкоди при застосуванні біологічного очищення щодо таких стоків [179]. Тому дослідження проводились саме на стічних водах молокопереробної промисловості.

За різними оцінками, продукція харчової промисловості нині складає 15 – 21% від усієї промислової продукції, що виробляють в Україні. Підприємства харчової промисловості (молокозаводи, винзаводи, кондитерські фабрики, м'ясокомбінати та ін.), є найбільшими водоспоживачами, для отримання готової продукції яких витрачається в декілька разів більше води, ніж обробляється сировини [180].

Виробничі стоки молокоперероблюючих комбінатів (які використовували в експериментальних дослідженнях) мали білий чи жовтуватий колір та лужну реакцію. Через те що у стічних водах містяться білкові речовини, вуглеводи і жири, вони швидко піддаються загниванню і закисанню.

Форми азоту, які входять до складу стічних вод молокоперероблюючих підприємств приведені на рис. 5.1:

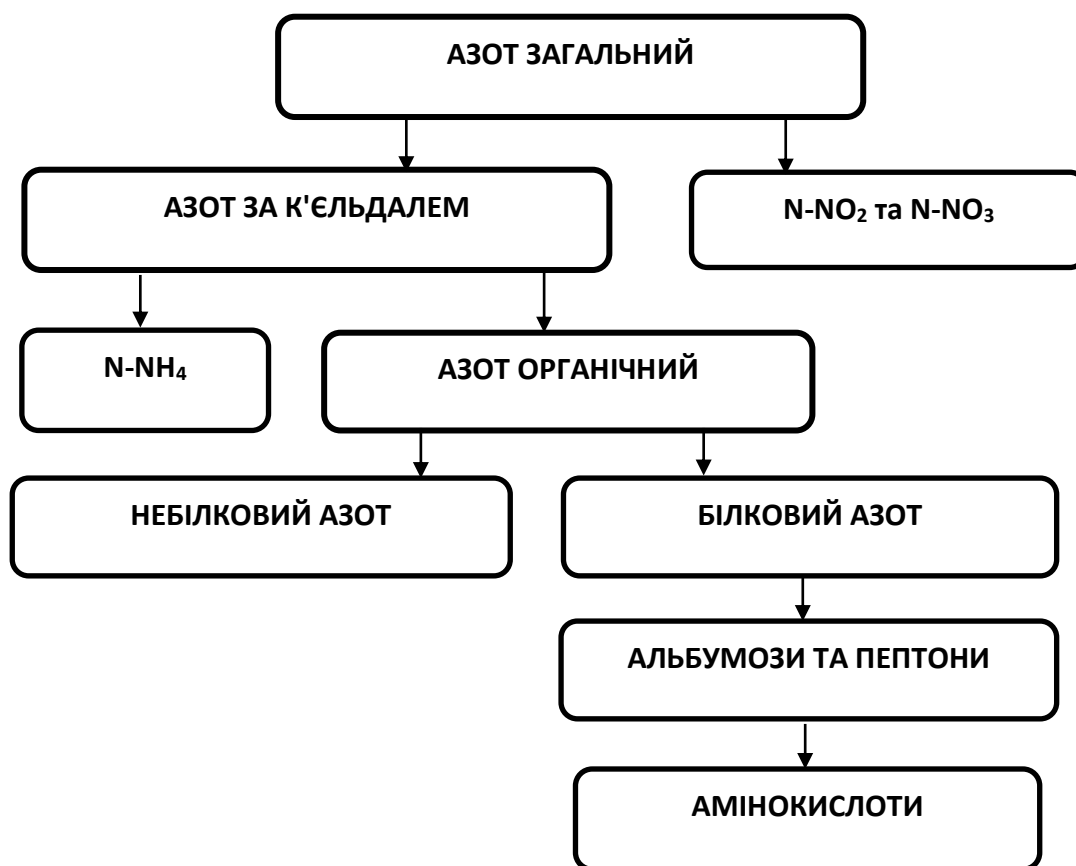


Рисунок 5.1 – Форми сполук азоту, які містяться в стічних водах молокоперероблюючих підприємств

5.2 Вплив екологічних чинників на перетворення азотвмісних сполук іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі у проточних умовах

Проточні умови культивування є вагомим екологічним чинником формування іммобілізованого мікробіоценоза. Ці умови забезпечують стабільність (в певному діапазоні) концентрацій основних органічних та азотвмісних сполук в середовищі та стабільність інших екологічних чинників – рН, солевмісту, концентрації розчинного O_2 тощо (за умови стабільності складу стічних вод, що подаються на очистку).

Розвиток і активність метаболізму іммобілізованих бактерій в біореакторі залежать від наступних екологічних факторів: величини рН; температури очищення води; концентрації розчиненого кисню, вмісту у стічних водах органічних речовин, вмісту амонійного азоту і білкових сполук в стічних водах; складу стічних вод, величини навантаження на біоценоз, вік біоценозу, чисельність мікроорганізмів біоценозу, в тому числі, аноксидних бактерій апаттох-комплексу тощо.

Для забезпечення ефективного функціонування автотрофних азоттрансформуючих бактерій – нітрифікуючих I та II фаз й апаттох-бактерій, протягом тривалого часу в дещо нестабільних умовах навколишнього середовища (через мінливість складу стічних вод і навантаження на мікробіоценоз за хімічними сполуками) важливо визначити оптимальні за основними екологічними чинниками умови для життєдіяльності біоценозу. Вибір оптимальних параметрів ускладнюється необхідністю очищення стічних вод і від органічних сполук, і від сполук азоту, а отже створенні найсприятливіших умов для життєдіяльності і гетеротрофних бактерій (які здійснюють очистку стічних вод від органічних сполук), і автотрофних бактерій (які видаляють мінеральні форми азоту). Причому в нашому випадку пріоритетним напрямком є оптимізація життєдіяльності автотрофних азоттрансформуючих бактерій.

Вплив розчиненого кисню на процеси деазотації водного середовища іммобілізованим мікробіоценозом в проточних умовах культивування.

Визначення оптимальних показників кисневого режиму

Для хемоорганогетеротрофних бактерій органічні речовини служать субстратом для енергетичного та конструктивного обміну речовин. Для хемолітоавтотрофних бактерій (в тому числі нітрифікуючих та апамтох) неорганічні речовини служать субстратом енергетичного обміну, а конструктивний обмін здійснюється при відновленні CO_2 (в тому числі утворюваного гетеротрофними бактеріями) [181, 182]. Деякі гетеротрофні та автотрофні бактерії можуть споживати тільки певні речовини, не використовуючи інші [39, 115], а деякі – широкий спектр субстратів. Деякі гетеротрофні бактерії можуть вести окиснення органічної речовини до вуглекислого газу і води, інші – до проміжних продуктів, які в свою чергу можуть бути субстратом живлення для інших видів бактерій (коменсалізм). Аналогічні відносини складаються і серед автотрофних видів (нітрифікатори I і II фаз, нітрифікатори I фази і апамтох-бактерії). Тому очищення стічних вод, що містять різноманітні органічні та мінеральні речовини, відбувається змішаною культурою бактерій [101], яка володіє широким спектром фізіологічних можливостей і стійкістю до впливу зовнішніх факторів.

В аеробних умовах при дихальному метаболізмі мікроорганізми отримують основну енергію в результаті ферментативних реакцій в дихальному ланцюзі (окислювального фосфорилювання) [182]. Кінцевим акцептором електронів при дихальному метаболізмі аеробних мікроорганізмів є кисень. Мікробіологічна деструкція органічних речовин і певні етапи метаболізму неорганічних сполук азоту в біореакторі відбувається за допомогою кисню повітря, розчиненого у рідкій фазі. Активність аеробного метаболізму в біореакторі залежить від концентрації розчиненого кисню, оптимальний вміст якого для окиснення тільки органічної речовини за даними наукової літератури який складає 1,0 – 1,5 мг/дм³ [183], 3,5 – 4,0 мг/дм³ [184], для нітрифікації – 2,0 – 2,5 мг/дм³ [185], 2,0 – 4,0 мг/дм³ [186]. Для аноксидних бактерій, що

зумовлюють апаттох-процес, а, отже, певну частку процесу деамонізації та деазотації, допустима концентрація кисню не повинна перевершувати 0,1 – 1,5 мг/дм³ [187 – 189], а денітрифікацію (деазотацію середовища) оптимізує концентрація кисню до 0,5 мг/дм³ [183] і навіть до 0,15 мг/дм³ [190]. Таким чином, для ефективної деамонізації та деазотації середовища в одному біореакторі необхідно поєднати протилежні за кисневим режимом мікробіологічні процеси. Лабораторна біодискова установка при проточному режимі роботи являє собою реактор неповного витиснення, тому кисневий режим уздовж конструкції реактора з іммобілізованим мікробіоценозом на носіях дещо відрізняється [191]. Але основним чинником такого поєднання аеробних, анаеробних та аноксидних процесів в одній установці із збереженням їх ефективності є іммобілізація мікробіоценозу.

Для виявлення кількісних показників впливу концентрації кисню на активність окислювальних процесів, що здійснював іммобілізований мікробіоценоз, провели серію експериментів з обробки висококонцентрованих за органічними сполуками стічних вод в біодисковій установці (табл. 5.1).

Установка – дисковий біореактор працював в проточному режимі 28 діб з урахуванням нарощування та адаптації біомаси. Контроль роботи здійснювали 9 разів, визначаючи концентрацію за основними показниками ХСК, N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃, розчинений кисень O₂ та рН середовища. В табл. 5.1. надані результати експериментальних досліджень, виконаних протягом однієї години.

При рівних вхідних ХСК можна скласти баланс по видаленню забруднюючих речовин через годину від початку подачі стічної рідини на очищення в біореакторі, виходячи з розрахунку, що при асиміляції на 100 мг БСК витрачається 5 мг азоту амонійного (табл. 5.2). Як видно, кількість видаленого амонійного азоту на 65 – 210 % перевищує витрати цього елемента на асиміляцію, що свідчить про наявність процесів нітрифікації. Це припущення підтверджує динаміка концентрації нітратів в процесі обробки: стабільне підвищення, проте, не стехіометрично з видаленням азоту амонійного.

Таблиця 5.1 – Показники води, очищеної в лабораторному біореакторі іммобілізованим адаптованим мікробіоценозом у проточних умовах

№ досл.	ХСК вхід., мгО/дм ³	ХСК вихід., мгО/дм ³	Ефективність оч. ХСК, %	N-NH ₄ вхід., мг/дм ³	N-NH ₄ вихід., мг/дм ³	Ефективність оч. N-NH ₄ , %	N-NO ₂ вхід., мг/дм ³	N-NO ₂ вихід., мг/дм ³	N-NO ₃ вихід., мг/дм ³	O ₂ , мгО/дм ³
1	823	165	80,0	79,9	52,9	33,8	12,3	8,74	2,96	1,8
2	823	50	94,0	72,8	4,12	94,3	9,48	3,1	10,74	4,2 – 5,7
3	875	<15	94,3	58,2	0,03	99,9	11,6	1,16	0,49	3,4 – 3,85
4	1646	<15	99,0	25,5	7,47	70,7	15,2	1,74	8,83	3,5 – 3,9
5	2000	<15	99,25	33,95	0,15	99,5	9,45	0,6	15	4,2 – 5,7
6	2000	<15	99,25	26,3	0,11	98,9	8,8	0,25	2,2	3,2 – 3,2
7	2940	<15	99,48	38,4	5,3	86,2	12,0	7,63	57,2	3,7 – 3,8
8	5761	83,2	98,6	141,7	5,52	96,1	9,14	3,98	0,95	2,9 – 5,4
9	8230	247	97,0	90,7	27,3	70,8	13,1	8,58	7,25	5,7 – 6,3

Останнє може бути зумовленим процесами денітрифікації, які дуже вірогідні в установках з іммобілізованою біомасою.

Таблиця 5.2 – Витрати сполук азоту на асиміляцію органічної речовини

№ досл.	ХСК вхід, мгО/дм ³	ΔХСК, мгО/дм ³	БСК ₅ , мгО ₂ /дм ³	Витрати N- NH ₄ розр., мг/дм ³	ΔN-NH ₄ експ., мг/дм ³	ΔN-NO ₃ , мг/дм ³
1	823	660	396	19,8	27,0	98,0
2	823	773	464	23,2	68,6	9,52
3	875	860	516	25,8	58,1	25,65

Експериментальні дослідження в проточному режимі обробки стічних вод іммобілізованим азоттрансформуючим мікробіоценозом виявили залежність залишкової концентрації N-NO₃ від концентрації O₂ в середовищі, яка графічно представлена на рис. 5.2.

Як видно, з підвищенням концентрації O₂ в середовищі, концентрація нітратів зростає (наприклад, з 1,8 до 3,8 мг/дм³ – майже втричі), що зумовлено, як інтенсифікацією процесу нітрифікації в цілому, так і нітрифікації II фази зокрема (яка особливо чутлива до параметрів кисневого режиму), а також пригніченням киснем процесів денітрифікації.

Розглядаючи вплив розчиненого кисню на видалення N-NH₄ (деамонізацію середовища) можна виділити 2 групи дослідів: з концентрацією розчиненого кисню ≤4,0 та ≥4,0 мг/дм³ (табл. 5.3). Як видно, при підвищенні концентрації розчиненого O₂ в середовищі видалення амонійного азоту (не залежно від ХСК середовища) суттєво (на 20 – 100 %) підвищується: при концентрації O₂ 1,0 – 4,0 мг/дм³ деамонізація становить 25,9 – 58,1 мг/дм³, а при концентрації O₂ 4,0 – 6,4 мг/дм³ – 33,8 – 136,2 мг/дм³. Така залежність свідчить про наявність активної нітрифікації I фази, яка відбувається не зважаючи на зверх високі концентрації органічних сполук в середовищі.

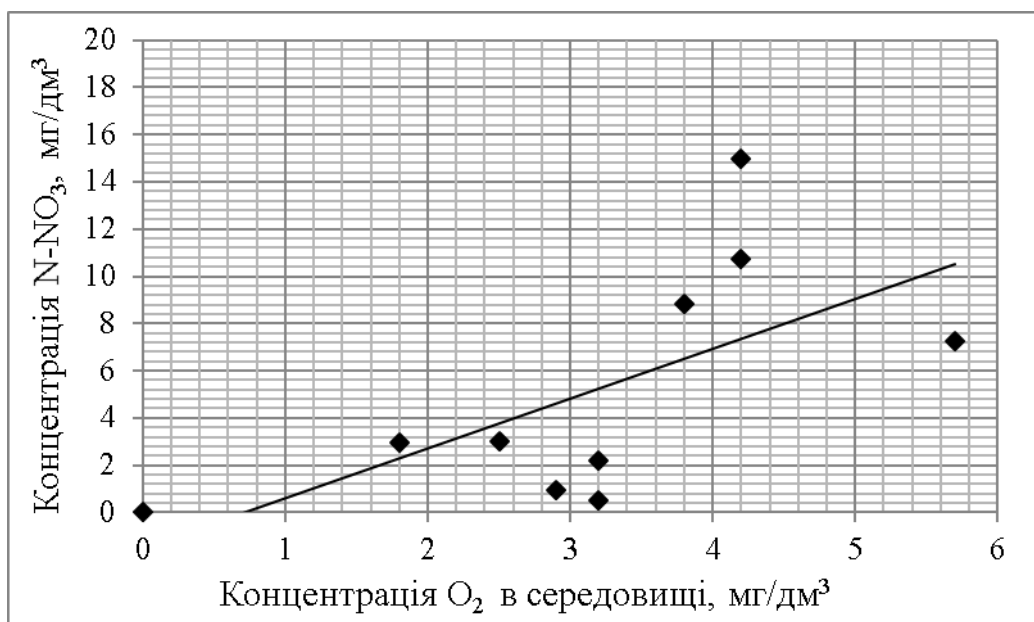


Рисунок 5.2 – Залежність залишкової концентрації N-NO₃ від концентрації O₂

Таблиця 5.3 – Вплив розчиненого кисню на видалення N-NH₄

Групи дослідів, залежно від концентрації кисню, мг/дм ³	Вихідні характеристики стічних вод		Розчинений O ₂ , мг/дм ³	ΔN-NH ₄ , мг/дм ³
	ХСК, мгО/дм ³	N-NH ₄ , мг/дм ³		
1,0 – 4,0	823	79,9	1,8-3,65	27,0
	875	58,2	3,4-3,85	58,1
	1646	25,5	3,5-3,9	18,02
	2000	26,3	3,2-3,3	25,9
	2940	38,4	3,7-3,85	33,1
4,0 – 6,4	823	72,8	4,2-5,73	68,6
	2000	33,95	4,2-5,7	33,8
	5761	141,7	2,9-5,4	136,2
	8230	90,7	5,7-6,34	63,4

Вплив температури на деазотацію водного середовища іммобілізованим мікробіоценозом у проточних умовах культивування. Визначення оптимального температурного режиму

Деструкція органічних сполук і сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом при обробці стічних вод в лабораторному біореакторі у проточних умовах відбувається за допомогою ферментативних систем мікроорганізмів. Синтез ферментів і їх активність залежить від багатьох екологічних чинників, серед яких одним з найвагоміших є температурний режим.

Для визначення впливу температури на життєдіяльність іммобілізованого біоценозу, досліджували процес очищення води від сполук азоту та органічних сполук (БСК₅) в умовах різних температурних режимів, які створювали штучно. Розглянуто чотири температурних режими: психрофільний – 14 °С, мезофільний 1 – 20 – 22 °С, мезофільний 2 – 28 – 33 °С, термофільний (термотолерантний) 36 – 37 °С. Результати дослідження наведені в рис. 5.3, 5.4 і табл. 5.4.

Як видно, найменші залишкові концентрації сполук неорганічного азоту та БСК₅ (на зважаючи на дещо підвищені концентрації цих забруднень на вході) спостерігались при обробці стічних вод при температурі 28 – 33 °С. Подальше підвищення температури привело до збільшення залишкових концентрацій як органічних речовин, так і сполук неорганічного азоту, тобто погіршенню видалення забруднень.

Ефективність видалення сполук азоту та органічних речовин іммобілізованим мікробіоценозом в проточному режимі обробки [192] в залежності від температури стічної води представлена графічно на рис. 5.4. Як видно, максимальні значення ефектів очистки, досягнуті в експериментах, становили: за органічною речовиною (БСК₅) – до 98,8%, за амонійним азотом – до 99%, за азотом нітратів – до 84,2%. Причому при підвищенні температури

≥ 33 °C ефективність видалення нітратів суттєво падала, що зменшувало загальний ефект деазотації води.

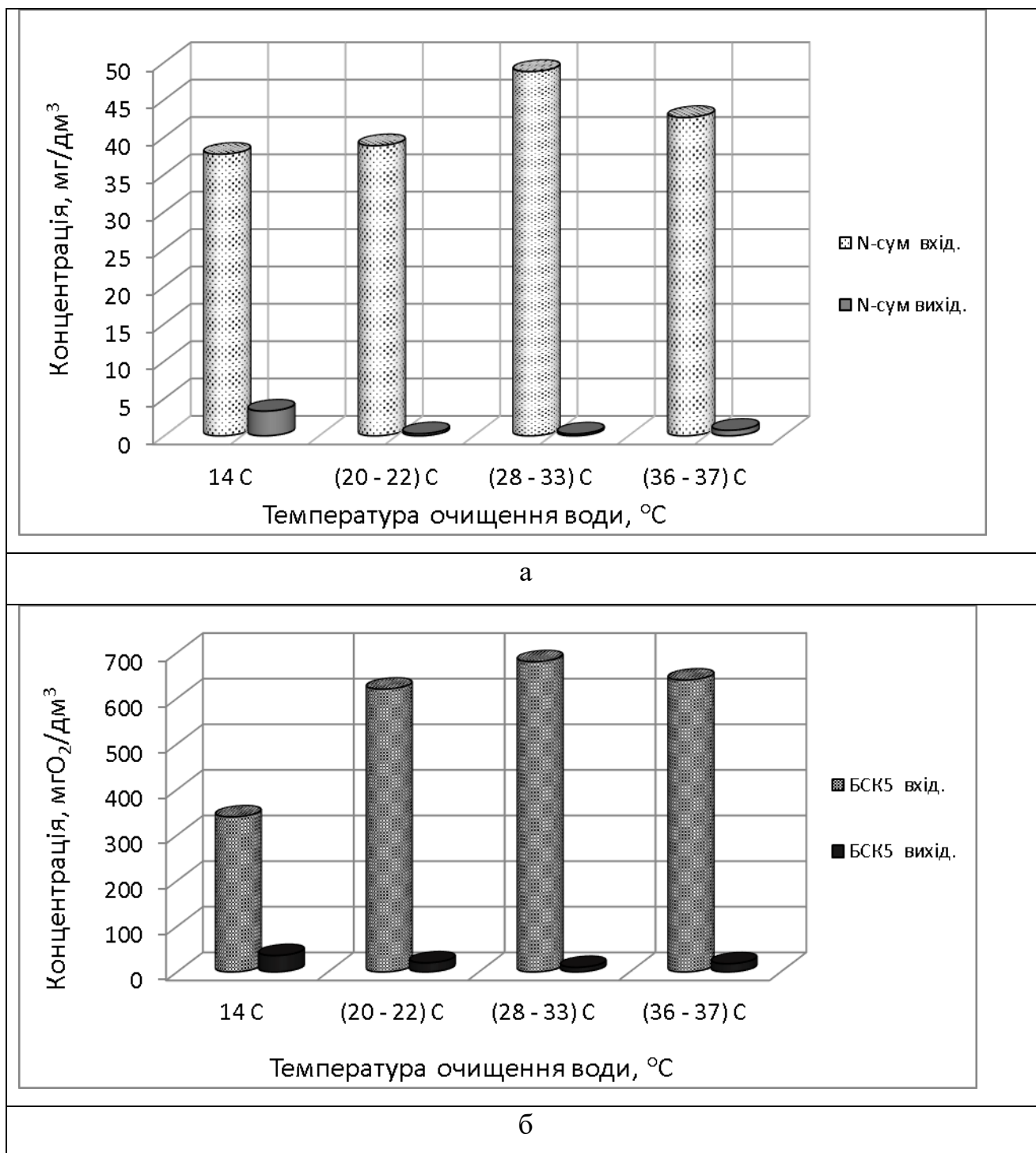


Рисунок 5.3 – Залежність видалення сумарного неорганічного азоту ($N_{\text{сум.неорг.}}$) (а) та видалення органічних речовин (за БСК₅) (б) від температурного режиму обробки

Таблиця 5.4 – Вплив температури на очищення води від сполук азоту і органічних речовин (за БСК₅)

Температура очищення води	БСК ₅ вхід., мгО ₂ /дм ³	N-NH ₄ вхід., мг/дм ³	N-NO ₃ вхід., мг/дм ³	N- NO ₂ вхід., мг/дм ³	БСК ₅ вихід., мгО ₂ /дм ³	N-NH ₄ вихід., мг/дм ³	N-NO ₃ вихід., мг/дм ³	N- NO ₂ вихід., мг/дм ³
14 °С	340	36,9	3,8	0,11	36,0	3,20	0,55	< 0,03
(20 – 22) °С	620	38,1	3,5	0,09	20,0	0,17	0,51	< 0,03
(28 – 33) °С	680	48,4	1,8	< 0,03	10,0	0,15	0,50	< 0,03
(36 – 37) °С	640	42,2	2,0	< 0,03	18,0	0,50	1,20	< 0,03

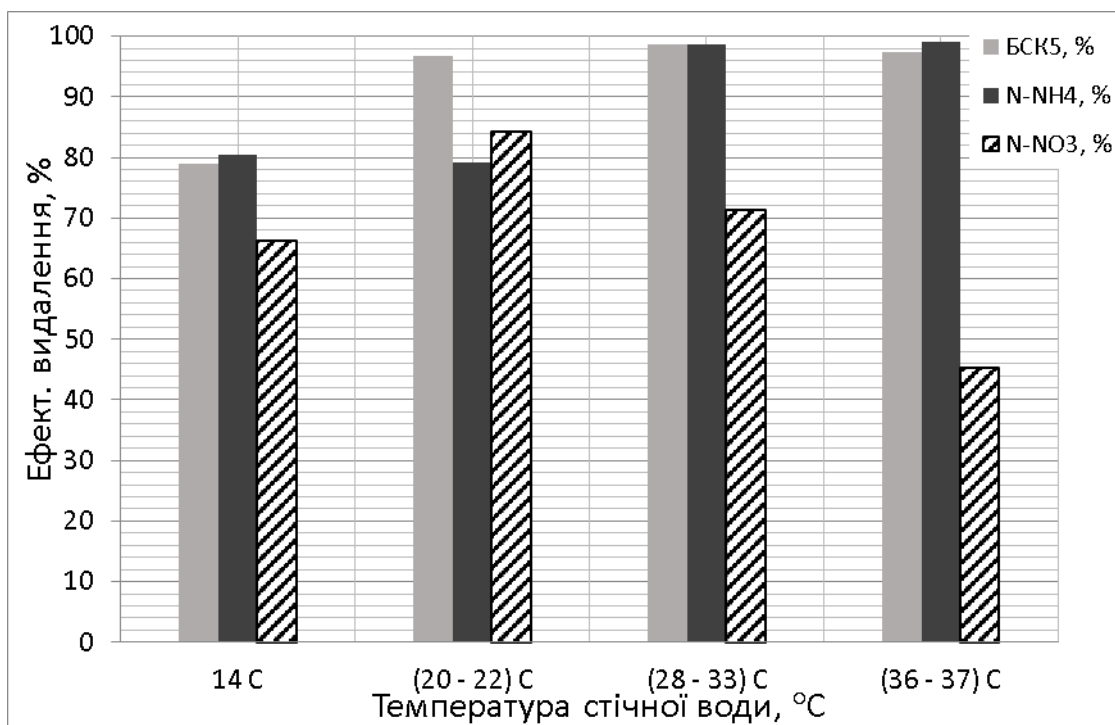


Рисунок 5.4 – Динаміка ефективності видалення сполук азоту і органічних речовин (за БСК₅) від температурного режиму

Отже з даних табл. 5.4 і рис. 5.3, 5.4 видно, що окиснення органічних речовин і деазотація стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом протікає особливо ефективно у межах температурного діапазону – (22 – 33) °C. Це свідчить про те, що хоча процес видалення сполук азоту за участю автотрофних бактерій в біореакторі відбувається в широкому діапазоні температур, температурний оптимум процесу показує, що деазотуючі мікроорганізми іммобілізованого мікробіоценозу відносяться до мезофільних. Найчутливішим до зниження температури (за даними наукової літератури [187]) є процеси нітрифікації I та особливо II фаз й аноксидного окиснення N-NH₄.

Вплив наявності органічних речовин на деамонізацію водного середовища іммобілізованим мікробіоценозом у проточних умовах культивування

Відомо, що органічні речовини інтенсивно інгібують деамонізацію середовищ як мікроорганізмами нітрифікаторами [193, 194], так і апаттох-

бактеріями [195]. Ці групи бактерій відносяться до типових автотрофів, ферментні системи яких дуже гостро реагують на наявність органічних сполук в середовищі розвитку, що було підтверджено власними експериментальними дослідженнями, викладеними в розділах 3 і 4.

Проте експерименти, виконані з іммобілізованим мікробіоценозом в проточних умовах (табл. 5.1), довели, що умови, створені в цьому ценозі, дозволяють реалізувати активність автотрофних нітрифікуючих мікроорганізмів навіть при дуже високих концентраціях органічних речовин (>1000 мгО/дм³) в середовищі. Таке явище дозволяє не виключати також і діяльність іншої автотрофної групи, що зумовлює деамонізацію водних середовищ – апаттох-бактерій. Відмічено наступне: на початку адаптації іммобілізованого мікробіоценозу до концентрації органічних сполук при збільшенні її \sim на 1000 мгО/дм³ в воді, що надходить на обробку, спостерігалось певне зменшення ефекту деамонізації (але не маси, видаленого N-NH₄). Але через певний невеликий час це зменшення ефекту долалось адаптацією іммобілізованого мікробіоценозу і відновленням глибокого вилучення N-NH₄. На рис. 5.5 надано залежність ефекту деамонізації, досягнутої в експериментах з концентрованою за органічними сполуками стічною водою. Як видно, стало пригнічення процесу деамонізації в цих експериментах спостерігалось при ХСК вхідної води ≥ 6000 мг/дм³.

Таким чином, можливо, за рахунок будови та структури біоплівки іммобілізованого мікробіоценоза, який формувався в присутності надзвичайно високих концентрацій органічних речовин та високих концентрацій N-NH₄ в середовищі, склалися такі просторові відносини в цій біоплівці, які дозволяють активно метаболізувати як гетеротрофним, так і автотрофним мікроорганізмам і окиснювати як органічні, так і неорганічні сполуки.

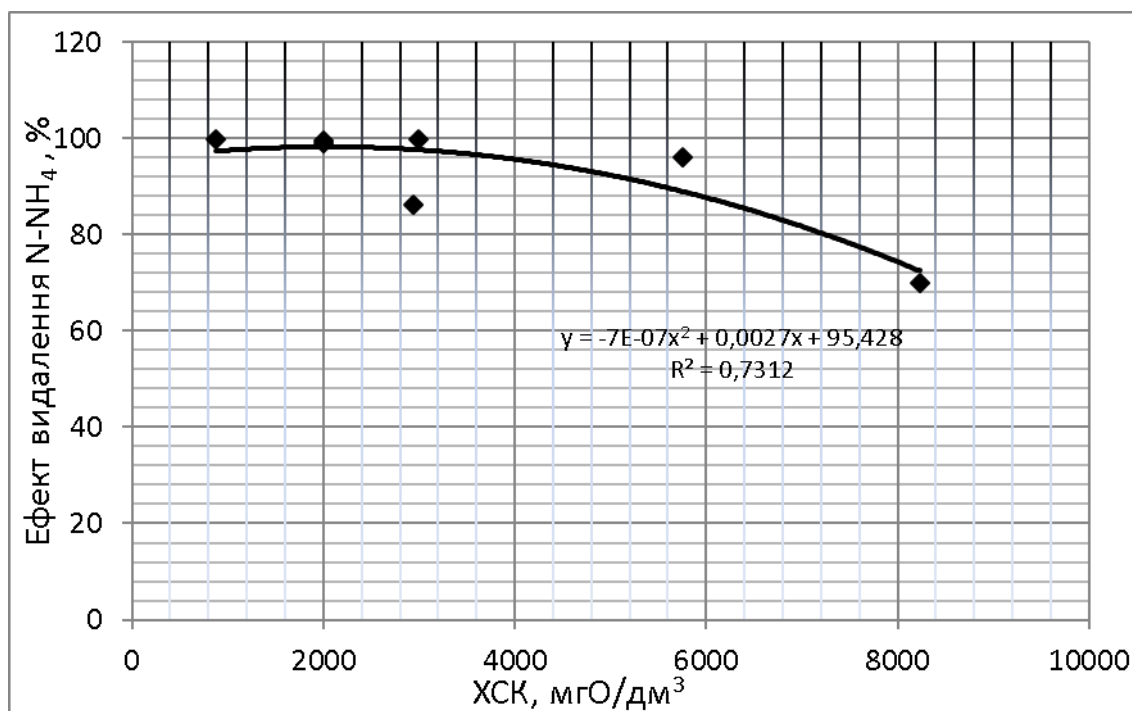


Рисунок 5.5 – Вплив концентрації органічних сполук на ефективність деамонізації стічної води іммобілізованим мікробіоценозом

Динаміка рН середовища в процесі обробки стічних вод в біодисковій установці в проточному режимі

Активна реакція середовища (рН) мінералізованої стічної води становить 7,4 – 7,9. Висококонтрована стічна вода молочного виробництва, яка поступає на обробку, містить розчинені органічні речовини і високий вміст сполук азоту, при цьому рН таких стічних вод може бути менше 5,0. Таке значення цього екологічного чинника може гальмувати процес окислення органічних речовин і трансформування азоту на початку обробки.

Мікробіологічні перетворення органічних та неорганічних субстратів в біореакторі, масообмінні процеси, які забезпечував проточний режим обробки, дозволяли вирівнювати значення рН стічної води (практично забуферювати середовище) в дуже вузькому діапазоні, оптимальному для проходження процесів. Так рН води, що надходила на очищення, коливався в широкому діапазоні: від 4,5 до 7,3. А в процесі очищення величина рН рідкого середовища

– стічної води зміщувалась на слабо-лужне – до 8,7 (рис. 5.6). Як видно, навіть при подачі в біореактор стічної води з екстремальним (не допустимим для біологічної очистки в аеротенках) рН – 4,5, через 2 год обробки (загальний термін обробки 6,6 год) рН середовища виходить на полку рН: 8,0 – 8,5.

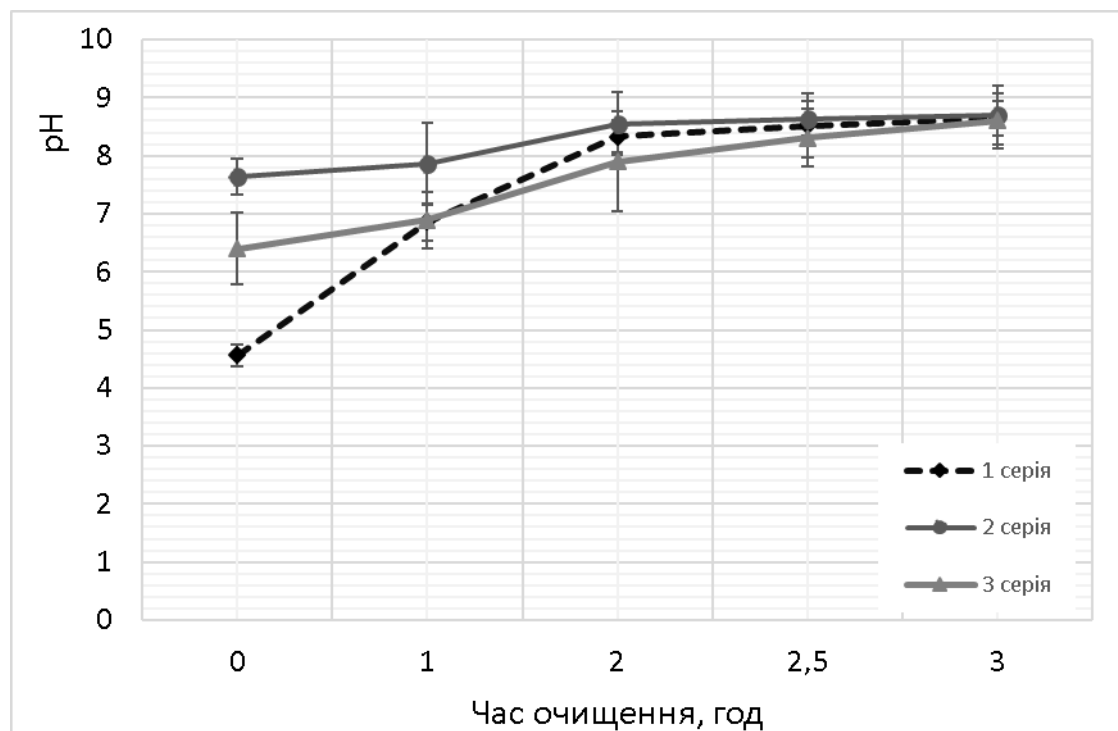


Рисунок 5.6– Активна реакції середовища рН залежно від терміну обробки стічної рідини іммобілізованим біоценозом у проточних умовах дискового біореактора

5.3 Дослідження процесу видалення азотвмісних сполук іммобілізованими біоценозами в біореакторі у проточних умовах

Тривалість обробки (час перебування) стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом у проточних умовах залежить від швидкості подачі стічних вод та об'єму біореактора в робочому режимі.

Час перебування (t_{at}) стічної води знаходимо за формулою:

$$t_{at} = \frac{V}{Q_{нас.}}$$

(5.1)

де V – об'єм біореактора в робочому режимі, який займає 40% від загального об'єму споруди, дм^3 (28,3);

$Q_{\text{нас}}$ – потужність перистальтичного дозуючого насосу, $\text{дм}^3/\text{год}$ (4,26).

Таким чином, тривалість обробки стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом складає 6,6 год.

Дослідження процесу очищення води іммобілізованими біоценозами в біореакторі проводили за трьома основними режимами обробки в проточних умовах протягом 7 годин обробки:

- 1 режим: при збільшеному навантаженні за ХСК, (табл. 5.5) БСК₅ і сполуками азоту у стічній воді, яка поступає для очищення (стічна вода молокозаводу, стічна вода виробництва тютюну, модельний розчин);

- 2 режим: при невеликих значеннях ХСК, БСК₅ і збільшеному навантаженні за сполуками азоту – табл. 5.6 (господарсько-побутові стічні води і очищена стічна вода нафтопереробного заводу);

- 3 режим: при збільшеному навантаженні за азотом амонійним при відсутності органічних сполук – табл. 5.7 (на мінеральному середовищі).

При 1-ому режимі обробки досліджували процес очищення стічних вод з високим вмістом сполук азоту і органічних речовин. Такі стічні води утворюються на виробництвах харчової промисловості [196], наприклад, молокозаводах, птахофабриках, м'ясокомбінатах, а також на виробництвах тютюнових виробів. Результати очищення води за першим режимом надані у таблиці 5.5.

Таблиця 5.5 – Показники якості води до очищення і після очищення в біореакторі (перший режим)

Показники	До очищення	Після очищення	Ефект. очищення, %
pH	4,09 – 6,52	8,18 – 8,38	–
ХСК, мгО/дм ³	600–1300	21 – 75	88 – 94

БСК ₅ , мгО ₂ /дм ³	420 – 650	10 – 15	96 – 98
N-NH ₄ , мг/дм ³	25,0 – 68,1	0,17 – 0,56	97 – 98
N-NO ₂ , мг/дм ³	0,03 – 0,09	<0,03	до 100
N-NO ₃ , мг/дм ³	3,5 – 12,8	<0,5	до 100

В умовах першого режиму відбувалися процеси, які пов'язані з послідовним процесом окиснення органічних сполук, окислювально-відновлювальними реакціями трансформування азоту, з отриманням окиснених сполук азоту, а також можливим аноксидним окисненням амонію, внаслідок чого утворюється молекулярний азот. Ефективність видалення амонійного азоту досягає 98%, нітритів і нітратів – до 100%.

Для визначення щільності біомаси при обробці стічних вод в проточних умовах біореактор (який працював як реактор неповного витиснювання) умовно поділили на першу та другу половини. Під час проведення експериментів в залежності від складу стічних вод виявлено, що в біодисковій установці в першій половині щільність біомаси складала – (3,72 – 4,22) мг/см², що відповідає у середньому 7,6 г/дм³, на дисках другої половини – (0,62 – 2,10) мг/см², що відповідає у середньому 4,2 г/дм³. В умовах присутності високих концентрацій розчинених органічних сполук в стічній воді, що оброблялась, спостерігалось зростання концентрації біомаси, іммобілізованої на інертному носії, загалом по всій установці до 4,3 мг/см², що відповідає (6,0 – 7,8) г/дм³. При цьому, на початку першої половини, де іммобілізувались політрофні мікроорганізми, які інтенсивно споживають органічні речовини, накопичувалось 64% біомаси, а наприкінці другої зони, де розвиваються переважно оліготрофні мікроорганізми (автотрофні бактерії), доля біомаси складає 36%. Швидкість зростання нітрифікуючих і апамтох [35, 197] мікроорганізмів досить повільна, а біомаса містить менше органічної речовин (більш мінералізована) і, тому щільність їх в біоплівці нижче, ніж гетеротрофних мікроорганізмів (за мікробіологічними дослідженнями на 1 – 4 порядки).

Концентрація біоценоза, який був іммобілізований на носії, складала (3,2 – 4,5) г/дм³, а вільноплаваючих мікроорганізмів – (2,0 – 2,8) г/дм³, загальна концентрація активної біомаси в біореакторі складала – (4,0 ± 2,5) г/дм³.

Такі великі концентрації метаболізуючого біоценозу в воді дозволяють суттєво збільшити окисну потужність установки. Розраховували окисну потужність біореактора за амонійним азотом (деамонізацією).

Спочатку на підставі усереднення отриманих експериментальних даних виконали розрахунок питомої швидкості видалення амонійного азоту (аналогічно питомій швидкості видалення органічних речовин) іммобілізованим мікробіоценозом в біодисковій установці (ρ_{ni} , мг N-NH₄ /Гбеззол.р-ни · год) за формулою [198]:

$$\rho_{ni} = \frac{(L_{en} - L_{ex})}{a_i \cdot (1 - z) \cdot t_{at}}$$

(5.2)

де $L_{en} - L_{ex}$ – різниця між вхідною та вихідною концентрацією амонійного азоту в стічній воді, що оброблялась в біодисковому реакторі, мг/дм³ (для 1-го режиму 46,5 – 0,37);

a_i – загальна концентрація біоценозу в біодисковому реакторі, г/дм³ (для 1-го режиму 6,8);

z – зольність мікробіоценозу в біодисковому реакторі, частки одиниці (для 1-го режиму 0,2037);

t_{at} – час перебування стічної рідини в біодисковій установці, год (для всіх 3-х режимів 6,6).

Питома швидкість видалення амонійного азоту для 1-го режиму склала:

$$\rho_{ni} = \frac{(46,5 - 0,37)}{6,8 \cdot (1 - 0,2037) \cdot 6,6} = 1,3 \text{ мг N-NH}_4 \text{ /Гбеззол.р-ни} \cdot \text{год.}$$

Окислювальну потужність біодискової установки за амонійним азотом ($OCat$, мг/дм³·доб) при 1-ому режимі обробки, розраховували за формулою (5.3) за аналогією питомої швидкості видалення органічних речовин [198]:

$$OCat = 24 \cdot a_i \cdot (1 - z) \cdot \rho_{ni} \quad (5.3)$$

$$OCat = 24 \cdot 6,8 \cdot (1 - 0,2037) \cdot 1,3 = 167,0 \text{ мг N/дм}^3 \text{ на добу.}$$

Ефективність деамонізації при 1-му режимі обробки досягала 98%.

При 2-ому режимі обробки досліджували процес видалення азоту при великих концентраціях сполук азоту і невеликих концентраціях органічних речовин в стічних водах, які надходили на очищення. Такі стічні води характерні для господарсько-побутових і стічних вод деяких виробництв, які після оброблення на локальних очисних спорудах вимагають доочищення від сполук азоту. Результати очищення води за другим режимом надані в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 – Показники якості води до очищення і після очищення в біореакторі (другий режим)

Показники	До очищення	Після очищення	Ефект. очищення, %
pH	7,41 – 7,92	7,8 – 8,4	–
ХСК, мгО/дм ³	38,0 – 150,0	20,0 – 55,0	48 – 83
БСК ₅ , мгО ₂ /дм ³	16,0 – 80,0	6,0 – 15,0	62 – 81
N–NH ₄ , мг/ дм ³	15,4 – 110,6	0,22 – 2,02	97 – 98
N–NO ₂ , мг/ дм ³	9,37 – 133,8	<0,03	до 100
N–NO ₃ , мг/ дм ³	3,6 – 22,1	2,4 – 4,7	33 – 89

З даних табл. 5.6 видно, що ефект видалення за амонійним азотом досягає 98%, за нітратним – 89%, азот нітритів в очищеній воді не визначався у межах можливостей методики вимірювання. Співвідношення азоту амонійного і нітритів в воді, яку подавали на обробку, складало 1 : (1,1-1,2), що сприяло процесу аноксидного окиснення амонію. Баланс трансформації сполук азоту під час очищення свідчить про наявність автотрофних реакцій деамонізації – нітрифікації та апамтох-процесу. Так, на окиснення 100 одиниць органічних речовин за БСК споживається приблизно 5 одиниць азоту [199], що обумовлює ефект видалення амонійного азоту (0,1 – 1,35)%. А оскільки реальний ефект

видалення азоту зі стічних вод складав (71 – 96)%, це надає підставу для висновку щодо наявності і нітрифікації, і апамтох-процесу при обробці стічних вод в біореакторі.

Питому швидкість за амонійним азотом іммобілізованого мікробіоценозу в біодисковій установці в 2-му режимі обробки розраховували за формулою (5.2) за усередненими експериментальними даними. Для 2-го режиму обробки вони становили:

L_{en} та L_{ex} – 63,0 мг/дм³ та 1,1 мг/дм³ відповідно;

a_t – загальна концентрація біомаси в біодисковому реакторі, г/дм³ (7,35);

z – зольність мікробіоценозу в біодисковій установці, одиниці частки (0,19);

t_{at} – час перебування стічної рідини в біодисковій установці, год (6,6).

Питома швидкість за амонійним азотом склала:

$$\rho_{ni} = \frac{(63,0 - 1,1)}{7,35 \cdot (1 - 0,19) \cdot 6,6} = 1,57 \text{ мг N-NH}_4 / \text{Г}_{\text{беззол.р-ни}} \cdot \text{ГОД.}$$

Окислювальна потужність біодискової установки при 2-ому режимі обробки становила:

$$OC_{at} = 24 \cdot 7,35 \cdot (1 - 0,19) \cdot 1,57 = 224,0 \text{ мг N/дм}^3 \text{ на добу.}$$

Ефективність деамонізації при 2-му режимі обробки досягала 97 – 98 %.

При 3-ому режимі обробки досліджували процес очищення модельних стічних вод, які містили збільшені навантаження за азотом амонійним і нітритами при відсутності органічних сполук (мінеральні середовища за П.І. Гвоздяком) [200]. Показники якості води до очищення і після очищення мінерального модельного стоку (третій режим) наведені в табл. 5.7.

Таблиця 5.7 – Показники якості води до очищення і після очищення мінеральної модельної стічної рідини (третій режим)

Показники	№серії дослідження	До очищення	Після очищення

pH	1 – 3	7,3 – 7,4	7,8 – 7,9
N-NH ₄ , мг/дм ³	1	26,6	0,15
	2	104,67	12,2
	3	143,4	2,9
N-NO ₂ , мг/дм ³	1	0,31	<0,05
	2	101,20	<0,05
	3	258,3	1,52
N-NO ₃ , мг/дм ³	1	48,98	14,04
	2	10,81	5,41
	3	15,18	5,36

За даними табл. 5.7 можна розрахувати ефект очищення стічних вод від сполук азоту за всіма його формами, який досягає:

у першій серії дослідження – 96,5%;

у другій серії дослідження – 83,0%;

у третій серії дослідження – 97,7%.

Питома швидкість видалення амонійного азоту іммобілізованим мікробіоценозом в біодисковій установці в 3-му режимі обробки розраховували за формулою (5.2) за усередненими експериментальними даними. Для 3-го режиму обробки вони становили:

L_{en} та L_{ex} – 91,6 мг/дм³ та 5,0 мг/дм³ відповідно;

a_t – концентрація біомаси в установці 3,4 г/дм³.

z – зольність іммобілізованого мікробіоценозу в біодисковій установці, одиниці частки (0,13);

t_{at} – час перебування стічної рідини в біодисковій установці, год (6,6).

Розрахована питома швидкість за амонійним азотом складала:

$$\rho_{ni} = \frac{(91,6 - 5,0)}{3,4 \cdot (1 - 0,13) \cdot 6,6} = 4,34 \text{ мг N-NH}_4 / \text{Г}_{\text{беззол.р-ни}} \cdot \text{ГОД.}$$

Окислювальна потужність біодискової установки за формулою (5.3) по амонійному азоту при 3-ому режимі обробки становила:

$$OCat = 24 \cdot 3,4 \cdot (1 - 0,13) \cdot 4,34 = 308,0 \text{ мг N/дм}^3 \text{ на добу.}$$

Як видно, під час оброблення води відбувається глибоке видалення N-NH₄, (деамонізація) та N-NO₂. Можливий шлях видалення N-NO₂ нітрифікацією II фази не підтверджується. Оскільки накопичення N-NO₃ не спостерігається, хоча денітрифікація в наявних фізико-хімічних умовах та концентрації кисню в водному середовищі повинна повністю пригнічуватись та сприяти збільшенню концентрації продуктів II фази нітрифікації – нітратів. Ці факти підтверджують наявність аноксидного окиснення амонію та виділення газоподібного азоту бактеріями апаттох-комплексу. Оскільки спостерігається зменшення вихідної концентрації N-NO₃ можливо припустити, що сумісно з апаттох-процесом все ж таки відбувається певна деазотація в процесах денітрифікації денітрифікуючими бактеріями біоплівки, іммобілізованих на носії, при використанні продуктів розкладання відмерлих клітин як джерела вуглецю.

Аналіз показників деамонізації свідчить, що зі зменшенням концентрації органічних забруднень і питома швидкість видалення N-NH₄, і окисна потужність біодискової установки за N-NH₄ стало збільшуються.

5.4 Оцінка використання біодискової установки для екологічно безпечного видалення сполук азоту зі стічних вод іммобілізованим біоценозом

Результати дисертаційного дослідження було використано на території ГО «ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК» при модернізації системи очищення та відведення стічних вод, які утворюються на площі даного об'єкту під час його роботи.

Кінний комплекс «Еко-парк» розташований від найближчого водного об'єкту на відстані 75 м (рис. 5.7), стічні води якого скидаються на водозбірну територію.

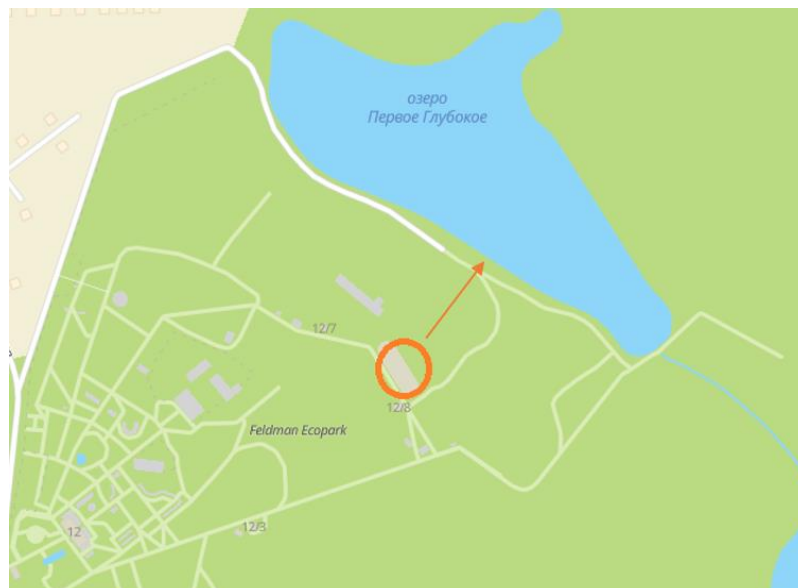


Рисунок 5.7 – Розташування ГО «ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК» від найближчого водного об'єкту

Тому було проведено випробування очищення стічних вод на дисковій установці іммобілізованим біоценозом на носії з високими концентраціями забруднюючих органічних речовин та сполук азоту (рис. 5.8).



Рисунок 5.8 – Впровадження біодискової установки на території ГО «ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК» для очищення стічних вод іммобілізованим біоценозом

Ряд натурних випробувань показав, що використання запропонованого комплексного устаткування дозволяє збільшити ступінь біологічного очищення

стічних вод на 45 – 60% за рахунок іммобілізованої біомаси на інертному носії і відстежувати всі ключові екологічні чинники цього процесу. Впровадження даної розробки дозволило ефективно очищувати стічні води від органічних речовин (до 97% за ХСК) та сполук азоту (до 78 %) (табл. 5.8).

Таблиця 5.8 – Показники якості води до та після обробки на дисковій установці на об'єкті ГО «ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК»

Показники забруднення	До очищення, мг/дм ³	Після очищення, мг/дм ³
ХСК	314	12
N-NO ₂	0,48	0,13
N-NO ₃	1,5	3,04
N-NH ₄	12,5	<0,15
Завислі речовини	180	<5,0

Такими чином, впровадження запропонованої біодискової установки має екологічне значення, що є пріоритетним в умовах її використання на території тваринного мультикомплексу.

ВИСНОВКИ ДО П'ЯТОГО РОЗДІЛУ

1. Проточні умови культивування є вагомим екологічним чинником формування іммобілізованого мікробіоценоза та його метаболізму. Ці умови забезпечують стабільність (в певному діапазоні) концентрацій основних органічних та азотвмісних сполук в середовищі та певну стабільність інших екологічних чинників – рН, солевмісту, концентрації розчинного O₂, тощо (за умови стабільності складу стічних вод, що подаються на очистку). Швидкість подачі стічних вод в біореактор становила 4,26 дм³/год, робочий

об'єм – 28,3 дм³, тривалість обробки стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом – 6,6 год.

2. Висококонцентрована стічна вода молочного виробництва, яка поступає на обробку, містить надзвичайно високі концентрації органічних речовин і високий вміст сполук органічного і неорганічного азоту, при цьому рН такої стічної води може бути менше 5,0. Ці чинники можуть гальмувати процеси деамонізації, який здійснюють автотрофні мікроорганізмами, та процеси загальної деазотації.

3. Результати експериментальних досліджень показали, що іммобілізований мікробіоценоз протягом 6,6 год перебування стічної води в біореакторі активно та глибоко (до 99,5 %) окиснює органічні сполуки та активно (до 99,9 %) деамонізує середовище. Отже, за рахунок будови та структури біоплівки, просторових та трофічних відносин між еколого-трофічними групами іммобілізованого мікробіоценоза, який формувався в присутності надзвичайно високих концентрацій органічних речовин та високих концентрацій N-NH₄ в середовищі, в біоплівці склалися такі умови, які дозволяють активно метаболізувати як гетеротрофним, так і автотрофним мікроорганізмам й окиснювати як органічні сполуки, так і неорганічні сполуки.

4. Розрахунок балансу азоту показав, що кількість видаленого амонійного азоту на 65 – 210% перевищує витрати цього елемента на асиміляцію, що спряжена з утилізацією органічних сполук, що свідчить про наявність процесів автотрофної деамонізації, в першу чергу нітрифікації. Це припущення підтверджує стабільне підвищення концентрації нітратів в процесі обробки.

5. Як екологічні фактори, що оптимізують розвиток азоттрансформуючих бактерій в біореакторі, активність деазотації та деамонізації стічної води експериментально дослідили вплив концентрації розчиненого кисню, температури стічної води, вмісту в стічних водах органічних речовин, величини рН.

6. З підвищенням майже вдвічі концентрації O_2 в середовищі, концентрація нітратів зростає майже втричі, що зумовлено, як інтенсифікацією процесу нітрифікації в цілому, так і нітрифікації II фази зокрема (яка особливо чутлива до параметрів кисневого режиму), а також пригніченням киснем процесів денітрифікації. При підвищенні концентрації розчиненого O_2 в середовищі з $1,0 - 4,0$ мг/дм³ до $4,0 - 6,4$ мг/дм³ видалення амонійного азоту (не залежно від ХСК середовища) підвищується на $20 - 100$ % (з $25,9 - 58,1$ мг/дм³ до $33,8 - 136,2$ мг/дм³).

7. В експериментальних дослідженнях впливу температури на процеси деазотації та деамонізації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом експериментально дослідили 4 температурних режими: 14 °С, $(20 - 22)$ °С, $(28 - 33)$ °С, $(36 - 37)$ С. Найменші залишкові концентрації неорганічного азоту та БСК₅ в очищеній воді та найвищі ефекти видалення цих сполук спостерігались при обробці стічних вод при температурі $28 - 33$ °С. Отже, деазотуючі мікроорганізми іммобілізованого мікробіоценозу відносяться до мезофільних.

8. Незважаючи на те, що рН стічної води, яка надходила на очищення, мав значення від $4,5$ до $7,3$, в процесі очищення рН рідкого середовища зміщувався і стабілізувався в слабко-лужній області – $8,0 - 8,5$.

9. Іммобілізований мікробіоценоз адаптувався до деамонізації середовища в екстремальних для автотрофної мікрофлори умовах надзвичайно високих ХСК (≥ 823 мгО/дм³). Стале пригнічення процесу деамонізації (на 30 %) в цих експериментах спостерігалось при ХСК вхідної води ≥ 6000 мгО/дм³.

10. Ефективність видалення сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом зі стічних вод різного складу досліджували в трьох режимах обробки:

- 1 режим: при збільшеному навантаженні за ХСК і сполукам азоту (стічна вода молокозаводу, виробництва тютюну, модельні стічні води);

- 2 режим: при невеликих значеннях ХСК, БСК₅ і збільшеному навантаженні за сполуками азоту (господарсько-побутові стічні води і очищена стічна вода нафтопереробного заводу);

- 3 режим: при збільшеному навантаженні за азотом амонійним при відсутності органічних сполук (на мінеральному середовищі).

11. При 1-му режимі роботи іммобілізованого мікробіоценозу в біодисковій установці загальна концентрація біомаси в біореакторі становила 6,8 г/дм³, питома швидкість видалення N-NH₄ – 1,37 мг N-NH₄ /Г_{беззол.р-ни}·ГОД ; при 2-му режимі роботи загальна концентрація біомаси в установці становила 7,35 г/дм³, питома швидкість видалення N-NH₄ – 1,57 мг N-NH₄ /Г_{беззол.р-ни}·ГОД; при 3-му режимі роботи загальна концентрація біомаси в установці становила 3,4 г/дм³, питома швидкість видалення N-NH₄ – 4,34 мг N-NH₄ /Г_{беззол.р-ни}·ГОД.

12. Окислювальна потужність біодискової установки за окисненням N-NH₄ при 1-ому режимі обробки складала 167 мг N/дм³ на добу, при 2-ому режимі обробки – 224 мг N/дм³ на добу, в 3-ому режимі обробки стічних вод – 308 мгN/дм³ на добу.

ВИСНОВКИ

В результаті виконання дисертаційної роботи на основі теоретичних і експериментальних досліджень вирішено актуальне науково-практичне завдання – визначення та використання екологічних властивостей іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу для управління мікробіологічною деамонізацією та деазотацією стічних вод при наявності та відсутності органічних сполук з метою захисту об'єктів гідросфери від евтрофікації.

Основні результати дисертаційної роботи полягають у наступному:

1. Аналіз науково-технічних матеріалів показав, що на екологічних властивостях азоттрансформуючих мікробіоценозів (видовий склад та метаболічні властивості яких суттєво доповнені сучасними відкриттями) базуються технології біологічної очистки стічних вод від азотвмісних сполук (деамонізації та деазотації). Але бракує відомостей про вплив екологічних чинників на іммобілізований азоттрансформуючий мікробіоценоз в біодисковій установці, кінетичні показники його метаболізму при деамонізації та деазотації висококонцентрованих (за органічними сполуками) та мінералізованих промислових стічних вод.

2. Для нарощування азоттрансформуючого мікробіоценозу розроблено конструкцію та виготовлено лабораторну біодискову установку (з дисками з полікарбонату, що чергуються за розмірами) робочим об'ємом 28,3 дм³, яка працює в контактному, або проточному режимах роботи.

3. Розроблено методологію дослідження екології іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу, що включала три напрямки: визначення основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, що входять в мікробіоценоз (мікробіологічними, фізіологічними та біохімічними методами), аналіз трофічних та просторових відношень між цими групами, визначення кількісних показників впливу екологічних чинників на активність деамонізації та деазотації водних середовищ.

4. За розробленою методологією визначено екологічні властивості іммобілізованого азоттрансформуючого мікробіоценозу біодискової установки. В складі мікробіоценозу виявлені амоніфікатори, АОБ, АОА, НОБ, апаттох-планктоміцети, денітрифікатори. Встановлено, що основними трофічними взаємовідносинами еколого-трофічних груп мікроорганізмів в азоттрансформуючому іммобілізованому мікробіоценозі є мутуалізм та конкуренція. Органічні сполуки частково (на 48,2%) інгібували деамонізацію, нітрифікацією та практично повністю інгібували апаттох-процес. При збільшенні концентрації $N-NH_4$ до 110 мг/дм^3 швидкість нітрифікації стало зростала, а апаттох-процес при концентрації $N-NH_4$ більше 80 мг/дм^3 частково інгібувався.

5. Визначено, що серед досліджених екологічних факторів найвагомим для деамонізації та деазотації стічних вод іммобілізованим мікробіоценозом у контактних умовах є концентрація органічної речовини (за ХСК). Сумарний ефект видалення $N-NH_4$ (неорганічного та в складі органічних речовин – білків й амінокислот) з концентрованих за органічними забрудненнями стічних вод склав 57,6% при швидкості видалення $N-NH_4$ до $1,6 \text{ мг}/(\Gamma_{\text{без.реч. год}})$.

6. При обробці висококонцентрованих за органічними забрудненнями стічних вод в проточних умовах культивування іммобілізований мікробіоценоз адаптувався до деамонізації середовища в екстремальних для автотрофної мікрофлори умовах: $XCK \geq 823 \text{ мгО/дм}^3$. Оптимальним для процесів деазотації був мезофільний температурний режим, концентрація кисню в середовищі $\geq 4 \text{ мг/дм}^3$. Питома швидкість видалення $N-NH_4$ в присутності органічних речовин досягала 1,6, при відсутності – $4,3 \text{ мг}/(\Gamma_{\text{без.реч. год}})$.

7. Розроблений екологічно безпечний спосіб очищення стічних вод від сполук азоту та розчинених органічних речовин в дисковому біореакторі до нормативних вимог для скиду в водний об'єкт впроваджено на ГО "ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК".

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Суходольська І.Л. Вторинне використання азоту у гідроекосистемах. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* 2017. № 2, Т. 69. С. 149–163.
2. Baker M.A., Guzman G., Ostermiller J. D. Differences in nitrate uptake among benthic algal assemblages in a mountain stream. *Journal of the North American Benthological Society.* 2009. Vol. 28, №1. P. 24–33. <https://doi.org/10.1899/07-129.1>.
3. Scott J.T., Lang D.A., King R.S., Doyle R.D. Nitrogen fixation and phosphatase activity in periphyton growing on nutrient diffusing substrata: evidence for differential nutrient limitation in stream periphyton. *Journal of the North Amer. Benthol. Soc.* 2009., Vol. 28, №1. P. 57–68. DOI: 10.1899/07-107.1.
4. Патика В.П., Гнатюк Т.Т., Булеца Н.М. Біологічний азот у системі землеробства. *Землеробство*, 2015. Вип. 2. С.12–20.
5. Биологическая фиксация азота: ассоциативная азотфиксация : монографія в 4-х т. / С.Я. Коць, В.В. Моргун, В.Ф. Патыка, С.М. Маличенко та ін. Київ : Логос, 2011. 412 с.
6. Eckert B., Weber O.B., Kirchhof G., Halbritter A., Stojfels M., Hartmann A. *Azospirillum dobereinae* sp. Nov., a Nitrogen-fixing bacterium associated with the C4 - grass *Miscanthus*. *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001. Vol. 51, № 1. P. 17–26. doi: 10.1099/00207713-51-1-17.
7. Коць С.Я., Патика В.П. Біологічна фіксація азоту та її значення в азотному живленні рослин. *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку*: НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики, Укр. т-во фізіологів рослин; голов. ред. В.В. Моргун. Київ : Логос, 2009. Т. 1. С.344–386.
8. Патика В. П., Коць С. Я., Волкогон В. В. та ін. Біологічний азот / за ред. В. П. Патики. Київ : Світ, 2003. 424 с.
9. Волкогон В.В. Ассоциативные азотфиксирующие микроорганизмы. *Микробиологический журн.* 2000. № 2, т. 62. С. 51–68.

10. Frans J. de Bruijn Biological Nitrogen Fixation. 2 Volume Set. Molecular Microbiology, 2015. 1260 p. URL: <https://www.wiley.com/en-us/Biological+Nitrogen+Fixation%2C+2+Volume+Set-p-9781119053095>ю (Last accessed: 02.11.2019).

11. Гамзиков Г.П. Системный комплексный подход в агрохимических исследованиях биогенных элементов в агроценозах (на примере азота). 2014. № 8. С. 3–16.

12. Muriel C.F. van Teeseling, Sarah Neumann, Laura van Niftrik The Anammoxosome Organelle Is Crucial for the Energy Metabolism of Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria. *Mol Microbiol Biotechnol.* 2013. Vol. 23, № 1(2). P. 104–117. <https://doi.org/10.1159/000346547>.

13. Мирзоева А.А., Казанчева Л.А., Казанчев С.Ч., Кумышева Ю.А. Факторы, влияющие на скорость деструкции растворимых белков в природных водах. *Современные проблемы науки и образования.* 2015. № 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23985> (Дата звернення: 21.09.2019).

14. Кузнецов А.Е., Градова Н.Б. Научные основы экобиотехнологии: учебное пособие. Москва : Мир, 2006. 504 с.

15. Макарова О. І., Отуріна І. П., Сідякін А. І. Прикладні аспекти використання мікрводоростей – мешканців водних екосистем. *Екосистеми, їх оптимізація та охорона.* Сімферополь: ТНУ, 2009. Вип. 20. С. 120–133.

16. Фізіологія рослин / Макрушин М. М. Макрушина Є. М., Петерсон Н. В., Мельников М. М. Вінниця : Нова Книга, 2006. 416 с.

17. Hense I., Beckmann A. The representation of cyanobacteria life cycle processes in aquatic ecosystem models. *Ecological Modelling.* 2010. Vol. 221, № 19. P. 2330–2338.

18. Rascio N., La Rocca N. Biological Nitrogen Fixation. *Encyclopedia of Ecology.* 2008. 419 p.

19. Беляева П. Г. Роль фитоперифитона в продукции органического вещества и круговороте азота в речных экосистемах (обзор). Гидробиол. журнал. 2013. № 3, Т. 49. С. 13–26.

20. Заядан Б. К. Маторин Д. Н., Баймаханова Г. Б. Консорциумы микроорганизмов, перспективных при получении биоудобрения для рисовых культур. Микробиология. 2014. № 4, Т. 83. С. 467–474.

21. Berntzon L., Erasmie S., Celepli N., Eriksson J., Rasmussen U., Bergman B. ВММА inhibits nitrogen fixation in the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120. *Mar Drugs*. 2013. Vol. 11, № 8. P. 3091–4108. DOI: 10.3390/md11083091.

22. Злышко А.С., Чеснокова С.М., Трифонова Т.А. Оценка предельно-допустимого воздействия на процессы самоочищения в экосистеме малого водотока. ВЛГУ, 2014. №13. С. 967–971.

23. Кучерявий В.П. Екологія. Львів : Світ, 2001. 500 с.

24. Dimitri Kits K., Christopher J. Sedlacek, Elena V. Lebedeva, Ping Han, Alexandr Bulaev, Petra Pjevac, Anne Daebeler, Stefano Romano, Mads Albertsen, Lisa Y. Stein, Holger Daims, Michael Wagner. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. *Nature*. 2017. Vol. 549, Issue 7671. P. 269–272. <https://doi.org/10.1038/nature23679>.

25. Klotz M.G., Stein L.Y. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle. *FEMS Microbiology Letters*. 2008. Vol. 278, Issue 2. P. 146–156. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00970.x.

26. Walker C.B., De La Torre J.R., Klotz M.G., Urakawa H., Pinel N., Arp D.J., BrochierArmanet C., Chain P.S., Chan P.P., Gollabgir A. *Nitrosopumilus maritimus* genome reveals unique mechanisms for nitrification and autotrophy in globally distributed marine crenarchaea. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. Vol. 107, Issue 19. P. 8818–8823. doi: 10.1073/pnas.0913533107.

27. Lucker S., Wagner M., Maixner F., Pelletier E., Koch H., Vacherie B., Rattei T., Damste´ J.S.S., Spieck E., Le Paslier D. A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing

bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010. Vol. 107, Issue 30. P. 13479–13484. doi: 10.1073/pnas.1003860107.

28. Лысак В.В. Микробиология: учеб. пособие. Минск : БГУ, 2007. 426 с.

29. Ястремська Л. С., Малиновська І. М. Загальна мікробіологія і вірусологія. Київ : Національний авіаційний університет, 2017. 230 с.

30. Tabar Y. S. Evaluation of nitrogen fixation microorganisms in agriculture. *Scientia Agriculturae*. 2013. Vol. 2, Issue 1. P. 22—25.

31. Харькина О. В. Эффективная эксплуатация и расчет сооружений биологической очистки сточных вод. Волгоград : Панорама, 2015. 433 с.

32. *Environmental Biotechnology: Concepts and Applications*. Ed. by H.-J. Joerdening and J. Winter. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005. 463 p.

33. Walter G. Zumft. Nitric Oxide Signaling and NO Dependent Transcriptional Control in Bacterial Denitrification by Members of the FNR-CRP Regulator Family. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2002. Vol. 4, Issue 3. P. 277–286.

34. Гусев М.В. Минеева Л.А. Микробиология: учебник для студ. биол. специальностей вузов. Москва : Изд. центр «Академия», 2003. 464 с.

35. Каллистова А. Ю., Дорофеев А. Г., Николаев Ю. А., Козлов М. Н. Роль анаммокс-бактерий в очистке сточных вод от соединений азота. *Микробиология*. 2016, Т. 85, № 2, С. 126–144. DOI: 10.7868/S0026365616020087.

36. Marcel M. M. Kuypers, Olav Sliemers A., Gaute Lavik, Markus Schmid, Bo Barker Jørgensen, Gijs Kuenen J., Jaap S. Sinninghe Damsté, Marc Strous, Mike S.M. Jetten. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. *Nature*. 2003. Vol. 422, № 6932. P. 608–611.

37. Pratyosh Shukla *Microbial Biotechnology: An Interdisciplinary Approach*. CRC Rress, Rohtak, India, 2017. 364 p.

38. Экология микроорганизмов экстремальных водных систем: учеб. пособие / Б.Б. Намсараев и др. – Улан-Удэ: Издательство Бурятского госуниверситета, 2008. 94 с.
39. Kirchman D.L. Processes in Microbial Ecology. OUP Oxford, 2012. 312 p.
40. Экология микроорганизмов : учеб. пособие. В 3 ч. Ч. 1 / О. Н. Сахно, Т. А. Трифонова. Владимир : Изд-во Владим. гос. ун-та, 2007. 64 с.
41. Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология. М.: Издательский центр «Академия», 2006. 352 с.
42. Фізіологія рослин / Макрушин М. М. та ін. ; за ред. проф. М. М. Макрушина. Вінниця : Нова Книга, 2006. 416 с.
43. Шлегель Г. Общая микробиология. Москва: Мир, 1987. 567 с.
44. Экология микроорганизмов / А. И. Нетрусов, Е. А. Бонч-Осмоловская, В. М. Горленко и др. Москва : Издательский центр «Академия», 2004. 272 с.
45. Hao X., Heijnen J.J., van Loosdrecht M.C.M. Model-based evaluation of temperature and in flow variations on a partial nitrification – ANAMMOX biofilm process. Water Research. 2002. Vol. 36. P. 4839–4849.
46. Методика проведения технологического контроля работы сооружений по очистке сточных вод утверждена приказом Председателя Агентства РК по делам строительства и жилищно-коммунального хозяйства от 29.11.2011 № 539.
47. Остроумов С.А. Загрязнение, самоочищение и восстановление водных экосистем. Москва :МАКСПресс, 2005. 147 с.
48. Пименова Е.В. Химические методы анализа в мониторинге водных объектов. Пермь: Изд-во ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА, 2011. 138 с.
49. Кочиш И. И., Калужный Н. С., Волчкова Л. А., Нестеров В. В.. Зоогигиена: Учебник. Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2008. 464 с.
50. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. Москва : ГЕОС, 2007. 264 с.

51. Остроумов С. А. О полифункциональной роли биоты в самоочищении водных экосистем. *Экология*. 2005. № 6, Т. 36. С. 452–459.
52. Клименко М. О., Бедункова О. О., Статник І. І. Динаміка самоочисної здатності поверхневих вод річки Устя. *Вісник НУВГП. Сільськогосподарські науки : зб. наук. праць*. 2019. Вип. 1(85). С. 3–15.
53. Venohr M., Hirt U., Hofmann J., Opitz D. et al. Modelling of Nutrient Emissions in River Systems – MONERIS – Methods and Background. *International Review of Hydrobiology*. 2011. 96 (5) P. 435–483.
54. Морозов Н. В. Эколого-биотехнологические пути формирования и управления качеством поверхностных вод: Региональные аспекты : дис. докт. биол. наук : 03.00.18. Казань, 2003. 493 с.
55. Нечаева И.С., Тюкавина О.Н., Астрологова Л.Е. Экология и охрана природы: методические указания к выполнению лабораторных работ. Архангельск: Северный (Арктический) федеральный университет, 2010. 59 с.
56. Экологическая микробиология : учеб.-метод. пособие / М. И. Чернявская и др. Минск : БГУ, 2016. 63 с.
57. Емцев В. Т., Емцев В. Т., Мишустин Е. Н. Микробиология. 6-е изд. Москва : Дрофа, 2006. 444 с.
58. Кузнецов А.Е., Градова Н.Б. Научные основы экобиотехнологии. Москва : Мир, 2006. 504 с.
59. Хенце М., Армоэс П., Ля-Кур-Янсен Й., Арван Э. Очистка сточных вод. Биологические и химические процессы /пер. с англ. Т.П. Мосоловой под ред. С.В. Калюжного. Москва : Мир, 2006. 480 с.
60. Семенова Е. Н., Сироткин А. С. Процессы биотрансформации азота в технологиях очистки сточных вод. *Вестник казанского технологического университета. Биотехнология*. 2008. №1. С. 42–52.
61. Kyle M. Lancaster, Jonathan D. Caranto, Sean H. Majer, Meghan A. Smith, *Alternative Bioenergy: Updates to and Challenges in Nitrification Metalloenzymology. Joule*. 2018. Vol. 2, Issue 3. P. 421–441. <https://doi.org/10.1016/j.joule.2018.01.018>.

62. Патент України на винахід № 97747 , МПК С02F 3/02. Спосіб аеробного біологічного очищення стічних вод / Гвоздяк П.І., Глоба Л. І., Саблій Л. А., Капарник А. І., Борисенко О. О., Жукова В. С.:заявник та патентоутримувач Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут». № а201014394; заявл. 01.12.10 ; опубл. 12.03.12, Бюл. №5.

63. Ягов Г.В. Контроль содержания соединений азота при очистке сточных вод. Водоснабжение и санитарная техника. 2008, № 7. С. 45–49.

64. Дмитренко Г. М. Закономірності безкисневого дихання аеробних бактерій. Доповіді Національної академії наук України. 2008. № 10. С. 170–176. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/dnanu_2008_10_33. (дата звернення: 05.06.2020).

65. Авдеенков П. П., Чистяков Н. Е. Механизм денитрификации. *Наука, техника и образование*. 2019. №4, Т. 57. С. 19–22.

66. Пат. 94568, РФ. МПК С02F 3/00, В09В 3/00, Е04Н 5/00. Комплектно-блочная модульная очистная установка заводского изготовления / Куликов Н. И., Гвоздяк П. И., Зубов М. Г., Ножевникова А. Н., Попов Д. В., Литти Ю. В. // Изобретения. Полезные модели. 2010. № 1.

67. Ruiz G., Jeison D., Rubilar O., Ciudad G., Chamy R. Nitrification-denitrification via nitrite accumulation for nitrogen removal from wastewaters. *Bioresour Technol.* 2006. Vol. 97, № 2. P. 330–335. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.02.018.

68. Sliemers A. Olav, Dervord N., Gomes G.L. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. *Water Research*. 2002. Vol. 36, Issue 10. P. 2475–2482. DOI: 10.1016/s0043-1354(01)00476-6.

69. Hanna Koch, Maartje A.H.J. van Kessel, Sebastian Lücker Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox *Nitrospira*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019. Vol. 103, Issue 1. P. 177–189. doi: 10.1007/s00253-018-9486-3.

70. Bartelme R.P., McLellan S.L., Newton R.J. Freshwater recirculating aquaculture system operations drive biofilter bacterial community shifts around a stable nitrifying consortium of ammonia-oxidizing archaea and comammox Nitrospira. *Front Microbiol.* 2017. Vol. 8, Article 101. doi: 10.3389/fmicb.2017.00101. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00101/full>. (Last accessed: 06.06.2020).

71. Dalsgaard T., Thamdrup B., Canfield D.E. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the marine environment. *Research in Microbiology.* 2005. Vol. 156, Issue 4. P. 457–464. DOI: 10.1016/j.resmic.2005.01.011.

72. Єсін М. А. Інтенсифікація роботи споруд для очистки стічних вод від сполук азоту та фосфору: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук 05.23.04 ХНУБА. Харків, 2014. 24 с.

73. Jetten M.S.M., Jetten M. S., Wagner M., Fuerst J., van Loosdrecht M., Kuenen G., Strous M. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ("anammox") process. *Environmental biotechnology.* 2001. Vol. 12, Issue 3. P. 283–288. DOI: 10.1016/s0958-1669(00)00211-1.

74. ДБН В.2.5–75:2013. Каналізація. Зовнішні мережі та споруди. Основні положення проектування [Чинний від 01.01.2014]. Київ, Міністерство регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України, 2013. 128 с. (Державні Будівельні Норми України).

75. Швед О. М., Петрина Р. О., Карпенко О. Я., Новиков В. П. Современные технологии извлечения азота из сточных вод. *НУ «Львовская политехника» BIOTECHNOLOGIA ACTA.* 2014. № 5, т. 7. С. 108–113. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/biot_2014_7_5_15. (дата звернення: 12.05.2020)

76. Khanitchaidecha W., Nakaruk A., Koshy P., Futaba K. Comparison of Simultaneous Nitrification and Denitrification for Three Different Reactors. *Biomed Res Int.* 2015. Aug 3. doi: 10.1155/2015/901508.

77. Reginatto V., Teixeira R. M., Pereira F., Schmidell W., Furigo Jr A., Menes R., Etchebehere C., Soareslet H. M. Anaerobic ammonium oxidation In a

bioreactor treating Slaughterhouse wastewater. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2005. Vol. 22, № 4. P. 593–600. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322005000400012>.

78. Dapena-Mora A., Campos J.L., Mosquera-Corral A. Stability of the ANAMMOX process in a gas-lift reactor and a SBR. *Journal of Biotechnology*. 2004. Vol. 110. P. 159–170.

79. Справочник наилучших эффективных технологий (базовые материалы) Раздел: Водоотведение. Подраздел: Очистные сооружения канализации (ОСК) / под. ред. к.т.н. Д.А. Данилович. Москва : 2015. 111 с.

80. Kartal M. B., van der Star W. R. L., Mike S M Jetten, Cristian Picioreanu, van Loosdrecht M.; Strous, M. New visions on life style and application of anammox bacteria. *Journal of Biotechnology*. 2005. Vol. 118, Issue 1, P.166 – 167. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.06.005>

81. Mulder J. W. et. al. Full Scale Operation of the SHARON Process for the Treatment of Rejection Water of Digested Sludge Dewatering. *Water Science and Technology*. 1999. Vol. 43, № 11. P.127–134.

82. Bertino A. Study on one-stage partial nitrotation-anammox in moving bed, biofilm reactors: asustainable nitrogen removal. *Master thesis in Environmental Engineering*. Stockholm/Torino. Materials Science. December 2010. 193 p.

83. Liu T., Li D., Zeng H.-P., Chang X.-Y., Zhang J. Microbial characteristics of a CANON reactor during the start-up period seeding conventional activated sludge. *Water Sci. Technol.* 2013. V. 67, Issue 3. P. 635–643. DOI: 10.2166/wst.2012.610.

84. Sablii L.A., Zhukova V.S. Modern biotechnologies of ammonium removal from wastewater. *Visnyk NUVHP*. 2010. Vol. 49, № 1. P. 25–31.

85. Kalyuzhnyi S, Gladchenko M, Mulder A, Versprille B. DEAMOX – New biological nitrogen removal process based on anaerobic ammonia oxidation coupled to sulphide-driven conversion of nitrate into nitrite. *Water Research*. 2006. Vol. 40(19). P. 3637 – 3645. DOI: 10.1016/j.watres.2006.06.010.

86. Muldera A., van de Graaf A.A., Robertson L.A., Kuenenb J.G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiology Ecology*. 1995. Vol. 16, Issue 3. P. 177–183. [https://doi.org/10.1016/0168-6496\(94\)00081-7](https://doi.org/10.1016/0168-6496(94)00081-7).

87. Ножевникова А. Н., Симанькова М. В., Литти Ю. В. Использование микробного процесса анаэробного окисления аммония (Анаммокс) для биотехнологической очистки стоков. *Биотехнология*. 2011. № 5. С. 8–31.

88. Zhang, F., He Z. Simultaneous nitrification and denitrification with electricity generation in dual-cathode microbial fuel cells. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2012. Vol. 87, Issue 1. P. 153–159. <https://doi.org/10.1002/jctb.2700>.

89. Харькин С.В. Современные технологические решения реализации очистки сточных вод от азота и фосфора. *Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение*. 2013. № 9. С. 60–68.

90. Баженов В.И. Энергосбережение из «воздуха». Повышение энергоэффективности очистных сооружений водоотведения. *Журнал Энергосвет*. 2013. № 1(26). С. 32–43.

91. Прикладная экобиотехнология: учебное пособие: В 2 т. Т 1. / А. Е. Кузнецов и др. 2-е изд. Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 629 с.

92. Степанов С.В., Стрелков А.К., Солкина О.С. Расчет аэротенков для очистки городских сточных вод от биогенных элементов: Метод. указания. Самара : Самарский гос. архитектур. ун-тет, 2015. 34 с.

93. Пантюкова М. Е., Мазлова С. В., Павлова Т. П., Шулаев М. В., Фридланд С. В. Интенсификация биологической очистки сточных вод стимуляторами процесса. *Безопасность жизнедеятельности*. 2011. №3. С. 31–34.

94. Вембер В. В., Гомеля М. Д., Петриченко О. І. Інтенсифікація біологічних процесів під час вилученні іонів амонію з води. Вісник НТУУ "КПІ імені Ігоря Сікорського". 2017. № 1(16). С. 53–58. DOI: <https://doi.org/10.20535/2306-1626.1.2017.119472>.

95. Баженов В. И., Кривощекова Н. А. Экономический анализ современных систем биологической очистки сточных вод на базе показателя – затраты жизненного цикла (Life cycle cost). *Водоснабжение и канализация*. 2009. № 1. С. 37–48.

96. Weon, S.Y., Lee S. I., Koopman B. Effect of temperature and dissolved oxygen on biological nitrification at high ammonia concentrations. *Environmental Technology*. 2004. Vol. 25, Issue 11. P. 1211–1219. <https://doi.org/10.1080/09593332508618369>.

97. Chang B.V., Chiang C.W., Yuan S.Y. Microbial Dechlorination of 2,4,6-trichlorophenol in Anaerobic Sewage Sludge. *J. Environ Sci Health B*. 1999. Vol. 34, Issue 3. P. 491–507. doi: 10.1080/03601239909373210.

98. Whittaker M., Bergmann D., Arciero D. Electron transfer during the oxidation of ammonia by the chemolithotrophic bacterium *Nitrosomonas europaea*. *Bioenergetics*. 2000. Vol. 1459, Issues 2–3. P. 346–355. DOI: 10.1016/s0005-2728(00)00171-7.

99. Na Tong, Jianqi Yuan, Hao Xu, Shaobin Huang, Congcong Sun, Xiangyu Wen, Yongqing Zhang Effects of 2,4,6-trichlorophenol on simultaneous nitrification and denitrification: performance, possible degradation pathway and bacterial community structure. *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 290. Doi:org/10.1016/j.biortech.2019.121757. (Last accessed: 02.01.2020). URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31299605>.

100. De Jager D., Sheldon M.S., Edwards W. Membrane bioreactor application within the treatment of highstrength textile effluent. *Water Science & Technology*. 2010. Vol. 65, Issue 5. P.907–914.

101. Зубов М.Г., Бояренев С.Ф., Зубов Г.М., Куликов Н.И., Шрамов Ю.М., Литти Ю.В., Некрасова В.К., Ножевникова А.Н. Биотехнология очистки сточных вод с иммобилизацией активного ила и удалением азота. *Водоснабжение и санитарная техника*. 2013. № 8. С. 72–75.

102. Lukas D., Svojitka J., Wanner J., Wintgens T. Nitrification performance in a membrane bioreactor treating industrial wastewater. *Water*

research. 2013. Vol. 47, Issue 13. P. 4412–4421. DOI: 10.1016/j.watres.2013.03.053.

103. Любченко О.А., Могилевич Н.Ф., Гвоздяк П.И. Влияние волокнистой насадки на активность нитрификации в очистке воды. *Химия и технология воды*. 1996. № 3, т. 18. С. 323–328.

104. Поліщук О.В. Денітрифікація міських стічних вод в коридорних аеротенках: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук. Київський нац. унів. будів. і архітек. Київ, 2007. 18 с.

105. Нездоймінов В.І. Одномулова нітрифікація-денітрифікація в біологічних реакторах із затопленою ерліфтною системою аерації: Автореф. дис. д-ра техн. наук: спец. 05.23. Донбаська національна академія будівництва і архітектури. Макіївка, 2013. 34 с.

106. Wagner M., Bjerrum L., Denecke M. Nitrification performance and nitrifier community composition of a chemostat and a membrane-assisted bioreactor for the nitrification of sludge reject water. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2001. Vol. 24. P. 203–210.

107. Сироткин А.С., Шагинурова Г.И., Ипполитов К.Г. Агрегация микроорганизмов: флоккулы, биоплёнки, микробные гранулы: монография Казань: «Фэн» АН РТ, 2007. 106 с.

108. Рымовская М.В., Ручай Н.С. Очистка сточной воды производства полимеров в анаэробных биосорбционных биореакторах. Седьмой международный конгресс. Часть 2. Вода: экология и технология. Москва, 2006. 695 с.

109. Wecker Andreas, Weber Norbert Das Kalk-Kohlensaure-System Система кальция-угольной кислоты при очистке сточных вод. *WWT: Wasserwirt. Wassertechn.* 2007. №3. P. 52–54.

110. Koltuniewicz A., Bezak K. Model matematyczny biosorbera membranowego. *Inz. chem. i proces.* 2001. Vol. 22, №3. P. 747–752.

111. Максимова Ю.Г. Микробные биопленки в биотехнологических процессах. *Биотехнология*. 2013. №4. С. 9–23.

112. Малдер А., ван де Грааф А.А., Робертсон Л.А., Куенен Дж. Ж. Анаэробное окисление аммония, обнаруженное в денитрифицирующем реакторе с кипящим слоем. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995. № 16. Р. 177–184.

113. Donlan R.M. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002. № 8 (9). Р. 881–890.

114. Айрапетян Т.С. теоретические исследования работы аэротенков со взвешенным и прикрепленным биоценозом. *Науковий Вісник Будівництва* 2017, Т. 88, №2. С. 223–228.

115. Лыков, И.Н., Шестакова Г.А. Микроорганизмы. Биология и экология. Калуга: Издатель Захаров С.И. (СерНа), 2014. 400 с.

116. Nicoletta C., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of Biotechnology* . 2000. Vol. 80, Issue 1. Р. 1–33. doi: 10.1016/s0168-1656(00)00229-7.

117. Жукова В.С. Очищення стічних вод від сполук азоту з використанням іммобілізованих мікроорганізмів : дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук : 05.17.21 / Київський політехнічний інститут. Київ, 2013. 202 с.

118. Мешенгиссер Ю.М., Щетинин А.И., Есин М.А. Удаление азота и фосфора активным илом. *Вода и экология. Проблемы и решения*. 2006. №4. С.26–35.

119. Звіт про науково-дослідну роботу «Розроблення рекомендацій щодо впровадження методу альголізації при очистці забруднених вод від біогенних елементів» за дог. № 17/1040/22/1 від 10.09.07. УДК 504:628.38, КП 01018083, № 01070U08070.

120. Бляшина М.В., Саблий Л.А. Использование анаэробно-аэробного биореактора для очистки сточных вод. *Водоочистка*. 2013. № 4. С. 19–23.

121. Beech I. B., Smith J. R., Steele A. A., Penegar I., Campbell S. A. The use of atomic force microscopy for studying interactions of bacterial biofilms with surfaces. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 2002. Vol. 23. №2. Р. 231–247.

122. Rothrock M. J., Vanotti M. B., Szögi A. A., Gonzalez M. C. G., Fujii T. Long-term preservation of anammox bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011. Vol. 92, № 1. P. 147–157.

123. Leboffe M.J., Pierce B.E. Microbiology: laboratory theory and application. Englewood (CO): Morton Publishing Company. Colorado, 2010. 428 p.

124. Гвоздяк П.І., Сапура О.В. Простий метод виявлення та оцінки інтенсивності анаеробних процесів, що супроводжуються утворенням газів. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2009. № 8. С. 53–57.

125. Попович О. Р., Вронська Н. Ю., Слюсар В. Т., Захарко Я. М. Застосування ANNOMOX процесу для біологічного очищення промислових вод. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2018. Вип.886. С. 184–189.

126. Pagga U., Bachner J., Stotmann U. Inhibition of nitrification in laboratory tests and model wastewater treatment plants. *Chemosphere* 65. 2006. Vol. 65(1). P. 1–8.

127. ДСТУ ISO 9509:2013 Якість води. Визначення токсичності за оцінюванням уповільнення життєдіяльності нітрифікувальних мікроорганізмів активного мулу (ISO 9509:2006, IDT) [Чинний від 01.07.2014]. Київ, 2014. 20 с. (Національний Стандарт України).

128. Лапач С.Н., Чубейко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : МОРИОН, 2000. 320 с.

129. Давод К., Совершенствование технологии очистки сточных вод на вращающихся биоконтакторах: дис. канд. техн. наук : 05.23.04 / Санкт-Петербург. гос. архит. – строит.ун- т. Санкт-Петербург, 2003. 165 с.

130. Hassard F., Biddle J., Jeremy R., Cartmell E., Jefferso, B., Tyrrel S., Stephenson T., Rotating biological contactors for wastewater treatment – A review. *Process Safety and Environmental Protection*. 2015. Vol. 94. P. 285–306. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2014.07.003>.

131. Patwardhan A.W. Rotating biological contactors: a review. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2003. Vol. 42, Issue 10. P. 2035–2051.

132. Цитлишвілі К.О., Горбань Н.С. Експериментальні дослідження зниження концентрації сполук азоту в лабораторних умовах з використанням біологічних процесів. Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти : матер. V Міжнар. наук.- практ. конф. (Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського», 26-27 жовтня 2017). Київ, 2017. С. 222–224.

133. Цитлишвили Е.А. Удаление соединений азота и фосфора из сточных вод предприятий пищевой промышленности. ГП «УкрНТЦ «Энергосталь» *Экология и промышленность*. 2018. №3-4 (56-57). С. 51–56.

134. Matsak A., Tsytlshvili K. Using different filter media of stormwater treatment performance. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2018. Vol. 1, № 20. P. 19–22.

135. Цитлишвили Е.А., Проскурнин О.А. Обеспечение экологической безопасности сброса сточных вод предприятий пищевой промышленности. *Науковий вісник будівництва, ХНУБА*. 2019. № 2(96), Т. 2. С. 335–341. DOI: 10.29295/2311-7257-2019-96-2-335-341.

136. ДБН В.2.5–75:2013. Каналізація. Зовнішні мережі та споруди. Основні положення проектування [Чинний від 01.01.2014]. Київ, Міністерство регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України, 2013. 128 с. (Державні Будівельні Норми України).

137. МВВ 081/12-0317-06 Методика виконання вимірювань водневого показника (рН) електрометричним методом. [Чинний від 02.02.2007]. Київ, 2006. 12 с. (Методика).

138. КНД 211.1.4.021-95 Методика визначення хімічного споживання кисню (ХСК) в поверхневих і стічних водах. [Чинний від 01.07.1995]. Київ, 1995. 17 с. (Керівний Нормативний Документ).

139. КНД 211.1.4.024-95 Методика визначення біохімічного споживання кисню після n днів (БСК) в природних і стічних водах. [Чинний від 01.07.1995]. Київ, 1995. 21 с. (Керівний Нормативний Документ).

140. КНД 211.1.4.030-95 Методика фотометричного визначення амоній іонів з реактивом Неслера в стічних водах. [Чинний від 01.07.1995]. Київ, 1995. 16 с. (Керівний Нормативний Документ).

141. КНД 211.1.4.023-95 Методика фотометричного визначення нітрит-іонів з реактивом Гріса в поверхневих та очищених стічних водах. [Чинний від 01.07.1995]. Київ, 1995. 11 с. (Керівний Нормативний Документ).

142. КНД 211.1.4.027-95 Методика фотометричного визначення нітратів з саліциловою кислотою у поверхневих та біологічно очищених водах. [Чинний від 01.07.1995]. Київ, 1995. 11 с. (Керівний Нормативний Документ).

143. МВВ 081/12-0008-01 Методика вимірювання масової частки концентрації розчиненого кисню методом йодометричного титрування за Вінклером. [Чинний від 03.09.02]. Київ, 2002. 25 с. (Методика).

144. КНД 211.1.4.031-95 Методика титриметричного визначення загального азоту в стічних водах. [Чинний від 01.07.1995]. Київ, 1995. 12 с. (Керівний Нормативний Документ).

145. Hanna Koch & Maartje A. H. J. van Kessel, Sebastian Lückerm Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox Nitrospira. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019. Vol. 103, Issue 1. P. 177–189. DOI: 10.1007/s00253-018-9486-3.

146. K. Dmitri Kits, Christopher J. Sedlacek, Elena V. Lebedeva, Ping Han, Alexandr Bulaev, Petra Pjevac, Anne Daebeler, Stefano Romano, Mads Albertsen, Lisa Y. Stein, Holger Daims, and Michael Wagner Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. *Nature*. 2017. Vol. 549, Issue 7671. P. 269–272. <https://doi.org/10.1038/nature23679>.

147. Ножевникова А.Н., Литти Ю.В., Некрасова В.К., Куличевская И.С., Григорьева Н.В., Куликов Н.И., Зубов М.Г. Анаэробное окисление аммония (Анаммокс) в биопленках иммобилизованного активного ила при очистке сточных вод с низкой концентрацией загрязнений. *Микробиология*. 2012. № 1, Т. 81. С. 28–38.

148. Ножевникова А.Н., Вишнякова А.В., Литти Ю.В., Бочкова Е.А., Ермошин А.А. Изменение относительной численности микробных групп, участвующих в удалении азота в системе реакторов анаммокс–частичной нитрификации при увеличении нагрузки по аммонийному азоту и ХПК. *Микробиология*. 2020. Т. 89, № 2. С. 206–213. DOI: 10.31857/S0026365620020147.

149. Berlanga M., Guerrero R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Microb Cell Fact*. 2016. Vol. 15. Issue 1. P. 162–165. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0569-5>.

150. Литти Ю.В. Анаэробное окисление аммония и метаногенез в системах аэробной очистки сточных вод с иммобилизацией микроорганизмов : дисс. канд. биол. наук : 03.02.03 / 03.01.06 / Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского РАН. Москва, 2012. 147 с.

151. Liu Y., Yang S.F., Li Y., Xu H., Qin L., Tay J.H. The influence of cell and substratum surface hydrophobicities on microbial attachment. *J. Biotechnol*. 2004. Vol. 110, Issue 3. P. 251–256. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2004.02.012.

152. Цитлишвілі К.О. Очищення стічних вод тютюнового виробництва на дисковому біореакторі. Проблеми техногенно-екологічної безпеки: освіта, наука, практика: Матер. Міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, НУЦЗУ, 21–22 листопада 2019). Харків, 2019 .С. 159–161.

153. Христенко А.М., Цитлишвілі К.О., Радіонов М.П., Юрченко В.О. Мікробіоценози біологічних очисних споруд, що перетворюють азотвмісні сполуки, та їх вплив на процеси в природних водоймах. Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти: матер. VI Міжнар. наук.-практ. конф. (Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського», 14–15 листопада 2019). Київ, 2019. С.206–209.

154. Шандрович В.Т., Мальований М.С., Мальований А.М. Застосування ANAMMOX-процесу для очищення стічних вод від сполук

азоту. *Вісник Національного університету "Львівська політехніка" Хімія, технологія речовин та їх застосування*, Львів. 2014. № 787. С. 352-357.

155. Сапура Е.В., Демчина В.П. Эколого-мониторинговое исследование ANAMMOX-процесса в природных и искусственных экосистемах Украины. *Энерготехнологии и ресурсосбережение*. 2012. №5. С. 76-79. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ETRS_2012_5_14. (дата звернення 15.09.2019).

156. Гвоздяк П.І., Сапура О.В Простий метод виявлення та оцінки інтенсивності анаеробних процесів, що супроводжуються утворенням газів. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2009. № 8. С. 53–57.

157. Cao Y., van Loosdrecht M.C.M., Daigger G.T. Mainstream partial nitrification–anammox in municipal wastewater treatment: status, bottlenecks, and further studies. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017. Vol. 101, Issue 4. P.1365–1383. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8058-7>.

158. Бурнашова Е.Н., Семенов С.Ю. Влияние физикохимических факторов на ANAMMOX-процесс. *Достижения науки и техники АПК*. 2016. Т. 30. № 5, С. 78-81.

159. João P. Bassin, Marcia Dezotti, Geraldo L. Sant’Anna Jr. Nitrification of industrial and domestic saline wastewaters in moving bed biofilm reactor and sequencing batch reactor. *Journal of Hazardous Materials*. 2011. Vol. 185. P. 242–248. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.09.024.

160. Юрченко В. О., Цитлішвілі К. О. Склад і міжвидові відносини в іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозах очисних споруд. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. Сільськогосподарські та технічні науки*. 2020. Вип. 96. Ч.1. С. 355–368. DOI 10.31395/2415-8240-2020-96-1-355-368.

161. Жукова В. С., Саблій Л. А. Використання іммобілізованих мікроорганізмів для очищення стічних вод від сполук азот : зб. тез доповідей Міжнародної наук.-практ. конф., (Київ, КНУБА, 26–28 квіт. 2011), Київ, 2011. Ч. 2. С. 117–119.

162. Маркевич Р. М., Гребенчикова И. А., Роденко А. В., Вострова Р. Н. Особенности биоценоза активного ила, находящегося в свободном состоянии и иммобилизованного на полимерном носителе. *Химия, технология органических веществ и биотехнология*. Труды БГТУ. 2013. №4. С. 219–223.

163. Martins S.C.S., Martins C.M., Cidrão Guedes Fiúza L.M., Santaella S.T. Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater. *African Journal of Biotechnology*. 2013, Vol. 12, Issue 28. P. 4412–4418. DOI: 10.5897/AJB12.2677.

164. Blyashyna M. Zhukova V., Sabliy L. Process of biological wastewater treatment for nitrogen, phosphorus removal by immobilized microorganisms. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2018. Vol. 2, №10(92). С. 30–37. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2018.127058>.

165. Рудська В.О., Саблій Л.А. Дослідження процесу іммобілізації мікроорганізмів на полімерному носії. Ресурсосбережение и энергоэффективность инженерной инфраструктуры урбанизированных территорий и промышленных предприятий: материалы II международной научно-технической интернет-конференции (2 – 27 февр. 2016, г. Харьков). Харьков, 2016. С. 36–38.

166. Das, M., & Adholeya, A. Potential Uses of Immobilized Bacteria, Fungi, Algae, and Their Aggregates for Treatment of Organic and Inorganic Pollutants in Wastewater. *Water Challenges and Solutions on a Global Scale*. 2015. Vol. 1206. P. 319–337. DOI: 10.1021/bk-2015-1206.ch015.

167. Храменков С. В., Козлов М. Н., Кевбрина М. В. Новая бактерия, осуществляющая анаэробное окисление аммония в реакторе биологической очистки фильтрата сброженного осадка сточных вод. *Микробиология*. 2013. № 5, Т. 82. С. 628–636.

168. Жукова В. С., Саблій Л. А. Використання іммобілізованих мікроорганізмів для очищення стічних вод від сполук азот : зб. тез доповідей Міжнародної наук.-практ. конф., (Київ, КНУБА, 26–28 квіт. 2011), Київ, 2011. Ч. 2. С. 117–119.

169. 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. Missing lithotroph identified as new planctomycete . *Nature*. 1999a. Vol. 400. Issue 6743. P. 446–449.

170. Mike S. M. Jetten, Laura van Niftrik, Marc Strous, Boran Kartal, Jan T. Keltjens & Huub J. M. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Journal Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2009. Vol. 44, Issue 2-3. P. 65–84. <https://doi.org/10.1080/10409230902722783>.

171. Шоляк К.В., Гнатуш С.О., Перетятко Т.Б., Гудзь С.П. Мікробіоценози стічних вод Львова на різних етапах очищення. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2013. Вип. 4(2). С. 76–80. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vdubm_2013_4\(2\)_9](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vdubm_2013_4(2)_9). (дата звернення: 12.10.2019).

172. Цитлішвілі К.О. Глибоке очищення стічних вод від сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом. Тези доповідей 74-ої науково-технічної конференції Харківського національного університету будівництва та архітектури. (Харків, ХНУБА, 5 – 6 березня 2019). Харків, 2019. С. 157–158.

173. Олійник О. Я., Маслун Г. С. До розрахунку кисневого режиму при очистці стічних вод. Проблеми водопостачання, водовідведення та гідравліки. КНУБА. 2010. Вип. 14. С. 76–102.

174. Tian Z., Zhang J., Song Y. Several key factors influencing nitrogen removal performance of anammox process in a bio-filter at ambient temperature. *Environ. Earth Sci*. 2015. Vol. 73. P. 5019–5026.

175. Nikolaev Yu.A., Kozlov M.N., Kevbrina M.V., Dorofeev A.G., Aseeva V.G., Pimenov N.V., Zharkov A.V. Study of the low temperature anoxic ammonia oxidation feasibility. *Water Practice Technol*. 2015. Vol. 10, Issue 1. P. 172–177. DOI: 10.2166/wpt.2015.019.

176. Frank Persson, Razia Sultan, Marco Suarez Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitrification–anammox at

low temperatures *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 154. P. 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.062>.

177. Іванченко А.В., Волошин М.Д., Трикіло А.І. Вплив температури на ефективність біологічної очистки стічної води: *Збірник наукових праць Дніпродзержинського державного технічного університету (технічні науки)*. 2009. № 1 (11). С. 183–187.

178. Шустер К., Нойберт И. Анаэробная обработка высококонцентрированных стоков молочных предприятий. *Научно-практический журнал «Экология производства»*. 2009. Выпуск № 11. С. 50–52.

179. Rodgers M, Zhan XM. Moving-medium biofilm reactors. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2003. Vol. 2, Issue 2. P. 213–224.

180. 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. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox-reactor in Rotterdam. *Water Res*. 2007. Vol. 41, № 18 P. 4149–4163.

181. Кирилина Т.В., Сироткин А.С., Денека М. Пространственное распределение азоттрансформирующих микроорганизмов в процессе биофильтрации сточных вод. *Вода: химия и экология*. 2012. №5. С. 60–65.

182. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов 2-е изд. Учебник для бакалавров. Изд. 2. 2019. 267 с.

183. Харькина О. В. Эффективная эксплуатация и расчет сооружений биологической очистки сточных вод. Волгоград : Панорама, 2015. 433 с.

184. Словцов А.А. Совершенствование процессов биологической очистки сточных вод с помощью прикрепленных биоценозов. *Вестник МГСУ*. 2008. Вып. 3. С. 83–85.

185. Guo X., Kim J. H., Behera S. K., Park H. S. Influence of dissolved oxygen concentration and aeration time on nitrite accumulation in partial nitrification process. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2008. Vol. 5, № 4. P. 527–534.

186. Липунов Н. И. Очистка сточных вод в биологических реакторах с биопленкой и активным илом (расчет биофильтров и аэротенков) : учебное пособие. Екатеринбург : УГЛТУ, 2015. 110 с.

187. Куликов Н.И., Литти Ю.В., Кочумян А.С. Условия ускоренного запуска процесса анаммокс на канализационных очистных станциях : *электрон. научн. журн. Universum. Технические науки*. 2017. № 5(38). URL: <http://7universum.com/ru/tech/archive/item/4835> (дата обращения: 25.10.2019).

188. Laura van Niftrik, Mike S.M. Jetten Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria: Unique Microorganisms with Exceptional Properties. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2012. Vol. 76, № 3. P. 585–596. DOI: 10.1128/MMBR.05025-11.

189. Lotti T., Kleerebezem R., Lubello C., van Loosdrecht M. C. M. Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water Research*. 2014a. Vol. 60. P. 1–14. DOI: 10.1016/j.watres.2014.04.017.

190. Харькин С.В. Современные технологические решения реализации очистки сточных вод от азота и фосфора. *Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение*. 2013. № 9. С. 60–68.

191. Prashant A.Kadu, Amruta A.Badge, Dr.Y.R.M.Rao Treatment of Municipal Wastewater by using Rotating Biological Contractors (Rbc's). *American Journal of Engineering Research*. 2013. Vol. 2, Issue 4. P. 127–132.

192. Matsak A., Tsytlshvili K., Rybalova O. Method of agricultural sewage water purification at troughsand a biosorption bioreactor. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2018. № 5(10), Issue 95. P. 16–25. DOI: 10.15587/1729-4061.2018.144138.

193. Strous M., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Appl. and Env. Microbiol.* 1999a. Vol. 65, Issue 7. P. 3248–3250. DOI: 10.1128/AEM.65.7.3248-3250.1999 .

194. Dapena-Mora A., Fernandez I., Campos J.L., Mosquera-Corral A., Mendez R., Jetten M.S.M. Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enz.*

Microbial. Tech. 2007. Vol. 40. P. 859–865.
DOI: 10.1016/j.enzmictec.2006.06.018.

195. Strous M., Kuenen J.G., Fuerst J.A., Wagner M., Jetten M.S.M. The anammox case – a new manifesto for microbiological ecophysiology. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2002. Vol. 81. P. 693–702.

196. Васенко А.Г., Цитлишвили Е.А., Свиридов Ю.В., Брук В.В. Оценка влияния точечных источников загрязнения на качество воды украинской части дельты Дуная. *Вісник Хмельницького національного університету серія: Технічні науки*. 2020. № 1 (281). С. 57–62. DOI 10.31891/2307-5732-2020-281-1-57-62.

197. Филина Н.Ю., Верховцева Н.В. Экологическая физиология микроорганизмов. Часть 1. Физиология микроорганизмов: Учеб. пособие / Ярослав. гос. ун-т. Ярославль, 2001. 92 с.

198. Воронов Ю., Казаков В., Толстой М. Струйная аэрация. Научное издание. Москва : Издательство Ассоциации строительных вузов, 2007. 216 с.

199. СНиП 2.04.03-85 Строительные нормы и правила. Канализация. Наружные сети и сооружения. Часть 5. Канализация. Наружные сети и сооружения. Москва : ФГУП ЦПП, 2006. 87 с.

200. Dang H.Q.A., Prapakorn T., Kraipat C., Malinee S. Anammox Process: the Principle, the Technological Development and Recent Industrial Applications. *KMUTNB Int J Appl Sci Technol*. 2015. Vol. 8, № 4. P. 237–244. DOI: 10.14416/j.ijast.2015.08.003

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні результати дисертації.

1. Matsak A., Tsytlshvili K., Rybalova O. Method of agricultural sewage water purification at troughsand a biosorption bioreactor. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2018. № 5(10), Issue 95. P. 16–25. DOI: 10.15587/1729-4061.2018.144138. (Scopus, EBSCO, Directory of Open Access Journals (DOAJ), OpenAIRE, Bielefeld Academic Search Engine (BASE), Index Copernicus та ін.). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження видалення сполук азоту зі стічних вод на дисковій установці, аналіз та розрахунки ефективності використання даного методу).
2. Цитлишвили Е.А. Удаление соединений азота и фосфора из сточных вод предприятий пищевой промышленности. *ГП «УкрНТЦ «Енергосталь» Екологія и промышленность*, 2018. № 3-4, Т. 56-57. С. 51–56. (Входить до переліку ВАК України). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження та комплексний аналіз процесів видалення біогенних елементів зі стічних вод харчової промисловості).
3. Цитлишвили Е.А., Проскурнин О.А. Обеспечение экологической безопасности сброса сточных вод предприятий пищевой промышленности. *Науковий вісник будівництва. ХНУБА*. 2019. № 2(96), Т. 2. С. 335–341. DOI: 10.29295/2311-7257-2019-96-2-335-341. (Academic Resource Index, CrossRef, Google Scholar, Google, ІІІІ, DRJI). (Особистий внесок здобувача: відбір проб, хімічний аналіз та обробка отриманих даних).
4. Васенко А.Г., Цитлишвили Е.А., Свиридов Ю.В., Брук В.В. Оценка влияния точечных источников загрязнения на качество воды украинской части дельты Дуная. *Вісник Хмельницького національного університету серія: Технічні науки*. 2020. № 1 (281). С. 57–62. DOI 10.31891/2307-5732-2020-281-1-57-62. (Google Scholar, Google Академія, eLIBRARY.RU). (Особистий внесок

здобувача: проведено аналіз основних екологічних проблем точкових джерел забруднення на якість поверхневого водного об'єкту).

5. Юрченко В. О., Цитлішвілі К. О. Склад і міжвидові відносини в іммобілізованих азоттрансформуючих мікробіоценозах очисних споруд. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. Сільськогосподарські та технічні науки*. 2020. Вип. 96. Ч. 1. С. 355–368. DOI 10.31395/2415-8240-2020-96-1-355-368. (Index Copernicus, Google Scholar, eLIBRARY.RU). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження (фізіологічними, гідрохімічними, біохімічними та мікробіологічними методами) складу та міжвидових відносин мікробіоценозів біоплівки та аналіз результатів дослідження).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

6. Цитлішвілі К.О., Горбань Н.С. Експериментальні дослідження зниження концентрації сполук азоту в лабораторних умовах з використанням біологічних процесів. *Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти* : матер. V Міжнар. наук.-практ. конф. (Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського», 26–27 жовтня 2017). Київ, 2017. С. 222–224. (Особистий внесок здобувача: запропоновано спосіб очистки стічних вод підприємств харчової промисловості з використанням дискової установки для підвищення рівня екологічної безпеки поверхневих водних об'єктів).

7. Юрченко В. О., Радіонов М.П., Цитлішвілі К.О. Глибока нітрифікація стічних вод як чинник активності нітрифікації в природній водоймі. VII-й Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнародною участю *Екологія/Ecology–2019*: збірник наукових праць. (Вінниця, ВНТУ, 25–27 вересня, 2019). Вінниця, 2019 С. 72. (Особистий внесок здобувача: досліджено та проаналізовано вплив чинників активності нітрифікації в природній водоймі).

8. Рибалова О., Бригада О., Сарапіна М., Мацак А., Цитлішвілі К. Заходи щодо зменшення впливу лісових пожеж на стан поверхневих вод.

Збірник наукових праць: III міжнародна науково-технічна конференція *Водопостачання і водовідведення: проектування, будівництво, експлуатація, моніторинг*. (Львів, НУ «Львівська Політехніка», 23–25 жовтня 2019). Львів, 2019. С. 237–238. (Особистий внесок здобувача: обробка експериментальних даних).

9. Христенко А.М., Цитлішвілі К.О., Радіонов М.П., Юрченко В.О. Мікробіоценози біологічних очисних споруд, що перетворюють азотвмісні сполуки, та їх вплив на процеси в природних водоймах. *Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти: матер.* VI Міжнар. наук.-практ. конф. (Київ, НТУ «КПІ ім. І. Сікорського», 14–15 листопада 2019). Київ, 2019. С. 206–209. (Особистий внесок здобувача: розроблено методологію дослідження мікробіоценозу біологічних очисних споруд, що перетворюють азотвмісні сполуки).

10. Цитлішвілі К.О. Очищення стічних вод тютюнового виробництва на дисковому біореакторі. *Проблеми техногенно-екологічної безпеки: освіта, наука, практика: Матер. Міжнар. наук.-практ. конф.* (Харків, НУЦЗУ, 21–22 листопада 2019). Харків, 2019. С. 159–161. (Особистий внесок здобувача: визначення оптимальних параметрів видалення зі стічних вод сполук азоту, аналіз отриманих даних).

11. Горбань Н.С., Саввова О.В., Бабіч О.В., Зінченко І.В., Цитлішвілі К.О., Шостенко О.Ю., Аскретков М.М. Дослідження процесів очищення стічних вод нафтопереробної галузі від нафтопродуктів та сполук азоту. *Екологічна безпека: проблеми і шляхи вирішення: зб. наук. статей XIII Міжнародної науково-практичної конференції*. (Харків, УКРНДІЕП, 11–15 вересня 2017). Харків, 2017. С. 105–110. (Особистий внесок здобувача: постановка експерименту та обробка даних).

12. Зінченко І.В., Бабіч О.В., Саввова О.В., Цитлішвілі К.О., Шостенко О.Ю. Очищення стічних вод тютюнового виробництва. *Екологічна безпека: проблеми і шляхи вирішення: зб. наук. статей XIV Міжнародної науково-практичної конференції*. (Харків, УКРНДІЕП, 10 – 14 вересня 2018). Харків,

2018. Вип.40. С. 148–156. (Особистий внесок здобувача: визначено головні екологічні небезпеки стічних вод харчової промисловості, які потрапляють у водний об'єкт).

13. Зінченко І.В., Цитлішвілі К.О., Бикасов В.М. Дослідження способу інактивації антибіотиків шляхом його деструкції озono-повітряною сумішшю з метою захисту довкілля і здоров'я людини. *Екологічна безпека: проблеми і шляхи вирішення*: зб. наук. статей XV Міжнародної науково-практичної конференції (Харків, УКРНДІЕП, 9 – 13 вересня 2019). Харків, 2019. С. 172–174. (Особистий внесок здобувача: аналіз результатів дослідження впливу антибіотиків на мікробіоценоз біодискової установки).

14. Цитлішвілі К.О. Глибоке очищення стічних вод від сполук азоту іммобілізованим мікробіоценозом. Тези доповідей 74-ої науково-технічної конференції Харківського національного університету будівництва та архітектури. (Харків, ХНУБА, 5 – 6 березня 2019). Харків, 2019. С. 157–158. (Особистий внесок здобувача: проведений аналіз та експериментальні дослідження з підбору носіїв для іммобілізації азоттрансформуючого мікробіоценозу).

Патент на корисну модель.

15. Спосіб дослідження якості біологічного очищення стічних вод з використанням комплексного лабораторного устаткування : пат. 142646 Україна : МПК (2006.01) C02F 3/02. № u 2019 10647 ; заявл. 28.10.2019 ; опубл. 25.06.2020, Бюл. № 12.

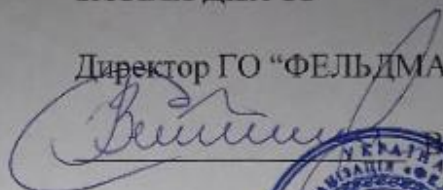
Стаття, що опублікована у іншому виданні

16. Мацак А.А., Цитлишвили Е.А. Очистка дождевых сточных вод с применением фильтрующих насадок. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2018. № 20, vol. 1. P. 19–22.

ДОДАТОК Б
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ГО "ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК"


В. В. Ільченко

«24» вересня 2019



АКТ

про впровадження результатів дисертаційних досліджень аспірантки Цитлішвілі К.О. (керівник д.т.н., проф. Юрченко В.О.) та аспіранта Мацак А.О.

Комісія у складі:

Голова – заступник директора з зооветеринарних питань Іващенко В.А.

Член комісії – інженер з охорони праці Руденко О.І.

цим Актом засвідчує, що результати дисертаційних досліджень аспірантки Цитлішвілі К.О. та аспіранта Мацак А.О. були використані на території стайні ГО "ФЕЛЬДМАН ЕКО-ПАРК", а саме при модернізації системи очищення та відведення стічних вод, які утворюються на всій площі даного об'єкту під час його роботи.

Аспіранткою Цитлішвілі К.О. було проведено випробування очищення стічних вод на дисковому біореакторі іммобілізованим біоценозом на носії з високими концентраціями забруднюючих речовин.

Впровадження даної розробки дозволило ефективно очищувати стічні води від органічних речовин та сполук азоту.

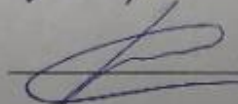
Голова комісії

Заст. директора
з зооветеринарних питань


В.А. Іващенко

Член комісії

Інженер з охорони праці


О.І. Руденко

23.09.2019

ДОДАТОК В
ДЕКЛАРАЦІЙНИЙ ПАТЕНТ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

