



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4015829/31-13

(22) 17.12.85

(46) 15.07.88. Бюл. № 26

(71) Институт коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского

(72) П.И. Гвоздяк, Н.Б. Загорная, В.У. Никоненко и Т.П. Чеховская

(53) 663.15 (088.8)

(56) Гвоздяк П.И., Дмитренко Г.Н., Куликов Н.И. Очистка промышленных сточных вод прикрепленными микроорганизмами. - Химия и технология воды, 1985, т. 7, № 1, с. 64-67.

Дмитренко Г.Н., Удод В.М., Гвоздяк П.И. Разрушение морфолина прикрепленными микроорганизмами. - Химия и технология воды, 1985, т. 7, № 3, с. 71-73.

(54) СПОСОБ СЕЛЕКЦИИ АССОЦИАЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ

(57) Изобретение относится к микробиологической очистке сточных вод и касается получения ассоциаций микроорганизмов-деструкторов токсических веществ, предназначенных для очистки многокомпонентных и высококонцентрированных сточных вод. Целью изобретения является увеличение деструктивной активности и расширение функциональных возможностей ассоциаций и их устойчивости к нагрузкам по токсическим веществам. Способ заключается в том, что образец субстрата помещают

в питательную среду с токсическими веществами и проводят периодическое культивирование содержащихся в нем микроорганизмов до отчетливо регистрируемой убыли наиболее стойкого к биodeградации токсиканта, после чего в среду вводят носитель для аутоиммобилизации микроорганизмов и начинают повышать концентрацию токсических веществ по мере 50%-ного разрушения наиболее стойкого из них, пока деструктивная активность ассоциации по отношению к нему не снизится до 35-45% от максимально достигнутой в этих условиях величины, после чего носитель с иммобилизованной ассоциацией переносят в условия непрерывного культивирования и продолжают повышать концентрацию токсических веществ до того момента, когда деструктивная активность ассоциации по отношению к тому же веществу снизится до 25-35% от максимально достигнутой уже в этих условиях непрерывного культивирования величины, затем концентрацию токсических веществ снижают до тех пор, пока ассоциация не начнет проявлять максимальную деструктивную активность. Способ позволяет повысить активность ассоциаций в 3-5 раз и увеличить устойчивость к токсикантам в 2-7 раз. Продолжительность селекции ассоциации составляет 2-3 месяца. 3 табл.

(19) **SU** (11) **1409657** **A1**

ПРО-К

Изобретение относится к микробиологической очистке сточных вод и касается получения ассоциаций микроорганизмов-деструкторов токсических веществ, предназначенных для очистки многокомпонентных и высококонцентрированных сточных вод.

Цель изобретения - увеличение деструктивной активности и расширения функциональных возможностей ассоциаций и их устойчивости к нагрузкам по токсическим веществам.

Способ заключается в том, что образцы субстратов, желательно имевших более или менее продолжительный контакт с теми токсикантами, для разрушения которых отбирается предлагаемым способом ассоциация, например, ил отстойников соответствующих сточных вод, помещают в питательную среду с невысокими концентрациями токсических веществ и проводят периодическое культивирование содержащихся в них микроорганизмов до отчетливо регистрируемой убыли токсических веществ (не менее 30% содержания наиболее стойкого к биодegradации токсиканта), после чего в среду вводят любой носитель для аутоиммобилизации микроорганизмов и продолжают культивирование в тех же периодических условиях, дробно повышая концентрацию токсикантов по мере 50%-ного разрушения наиболее устойчивого из них до тех пор, пока максимально достигнутый в этих условиях уровень его разрушения не снизится до 35-45%, после чего ассоциацию микроорганизмов, иммобилизованную на носителе, переносят в условия непрерывного культивирования и продолжают обработку возрастающими концентрациями до того момента, когда деструктивная активность ассоциации по отношению к наиболее устойчивому токсиканту снизится до 25-35% от максимально достигнутой уже в условиях непрерывного культивирования величины, после чего концентрацию токсических веществ постепенно снижают до тех пор, пока ассоциация не начнет проявлять максимальную деструктивную активность.

Особенностью способа является смена условий культивирования микроорганизмов, закрепленных на носителе, с периодических на непрерывные, что позволяет продолжить обработку ассоциаций возрастающими концентрациями

токсических веществ для повышения их деструктивной активности.

Способ позволяет повысить активность ассоциации в 3-5 раз и увеличить устойчивость к токсикантам в 2-7 раз.

Продолжительность селекции ассоциации составляет 2-3 месяца.

Соотношение между концентрацией основного токсического вещества, уровнем его разрушения и количеством жизнеспособных клеток микроорганизмов в ассоциации представлено в табл. 1.

Пример 1. Для селекции ассоциации микроорганизмов-деструкторов надсмольных сточных вод производства анилино-фенол-формальдегидных смол, содержащих 2,4% фенола, 3,6% метанола и 2,3% формальдегида, берут 100 г соскоба со стен отстойника этих вод и помещают в колбы Эрленмейера емкостью 1 л. Средой для культивирования микроорганизмов служат реальные сточные воды отстойника, разбавленные водопроводной водой таким образом, чтобы первоначальное содержание наиболее стойкого из токсических субстратов (фенола) не превышало 500 мг/л, и при этом добавляют соли, г/л: 1,0 NH_4NO_3 ; 0,7 K_2HPO_4 ; 0,3 KH_2PO_4 ; 0,1 MgSO_4 .

Первую стадию селекции осуществляют в условиях периодического культивирования: колбы помещают на качалку с 150 об/мин при 34°C. Ежедневно определяют убыль токсических веществ в среде по общепринятым методам. После отчетливо регистрируемой убыли (на 30%) наиболее стойкого к биоразрушению токсического вещества (фенола) в среду вносят носитель (стеклоерш массой 10 г) для закрепления микроорганизмов. Затем по мере 50%-ной убыли фенола концентрацию токсических веществ увеличивают с интервалом 250 мг фенола/л до величины 2 г/л, при которой уровень разрушения фенола снижается до 45% от максимально достигнутого (табл. 1, этап I).

Затем носитель с ассоциацией микроорганизмов, отселекционированной на первой стадии, помещают в условия непрерывного культивирования: в колонку прямоточной установки емкостью 1 л с автоматической подачей сточной воды при $D = 0,033 \text{ ч}^{-1}$, и продолжают

повышать концентрацию токсических веществ в подаваемом в установку растворе с интервалом 500 мг/л фенола с 2 г/л до величины 12 г/л, при которой степень разрушения фенола снижается до 35% от максимально достигнутой в протоке, после чего нагрузку по токсическим веществам уменьшают с тем же интервалом (500 мг/л) до величины, равной 5 г/л фенола, при которой уровень его разрушения оказывается максимальным для данных условий - 98% (табл. 1, этап II).

Общая продолжительность селекции ассоциации по данному способу составляет 2-3 мес.

По способу получена ассоциация микроорганизмов-деструкторов для очистки надсмольных сточных вод производства анилино-фенол-формальдегидных смол (ПО "Карболит"), содержащих фенол, метанол и формальдегид, и состоящая из *Bacillus licheniformis* (40%), *Bacillus megaterium* (40%) и *Pseudomonas sp.* (20%).

Для сравнения деструктивной активности ассоциаций, полученных предлагаемым и известным способами, изучают удельную производительность ассоциаций по известной формуле: $\Pi_p = (C_1 - C_0) \cdot D$, где C_1 - исходная концентрация токсического вещества; C_0 - его остаточная концентрация; D - скорость разбавления. Полученные расчеты приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, удельная производительность ассоциации по известному способу составляет 0,018 г.л.ч⁻¹, а по предлагаемому 0,2178 г.л.ч⁻¹, т.е. в 12 раз выше.

Для сравнения устойчивости ассоциаций, полученных предлагаемым и известным способами, к нагрузкам по токсическим веществам бактериальную массу каждой ассоциации из расчета 10⁶ клеток/мл вносят в два ряда колб емкостью 50 мл с синтетической питательной средой, содержащей смесь химически чистых веществ фенол-метанол-формальдегид в концентрации от 1 до 10 г/л, и устанавливают ту наивысшую концентрацию ксенобиотиков, при которой число жизнеспособных клеток в ассоциации не снижается. Определение микробной биомассы проводят через 24 ч контакта по оптической плотности бактериальных суспензий, которую измеряют при 600 нм на спектрофото-

метре Spekol. Эксперимент показал, что ассоциация, полученная по предлагаемому способу, после 24 ч контакта с ксенобиотиками не снижает жизнеспособности при нагрузке фенол-метанол-формальдегидом в концентрации 4-5-5 г/л, а по известному способу - при 1-2-2 г/л соответственно.

Пример 2. Для селекции ассоциации микроорганизмов-деструкторов с целью использования ее для очистки сточных вод производства "АНИД" от гексаметилендиамина (ГМД) и соли АГ (адипиновая кислота и гексаметилендиамин) почвенную болтушку активного ила (4 г) помещают в колбу Эрленмейера емкостью 1 л. В дальнейшем выполняют манипуляции, аналогичные описанным в примере 1.

Общее время адаптации микроорганизмов по данному способу 2-3 мес. Полученная ассоциация разрушает гексаметилендиамин за 48 ч на 99%.

Пример 3. Для селекции ассоциации микроорганизмов-деструкторов органических соединений производства полиизоцианата (анилина и др.) сточную воду из промотвала (500 мл) помещают в колбы Эрленмейера. В дальнейшем применяют манипуляции, описанные в примере 1.

Общее время адаптации комплекса микроорганизмов-деструкторов - 2 мес. Ассоциация разрушает анилин за 24 ч на 100%.

Сравнительные данные по деструктивной активности ассоциаций, полученных для очистки различных сточных вод известными и предлагаемым способами, приведены в табл. 3.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ селекции ассоциаций микроорганизмов-деструкторов для очистки сточных вод, предусматривающий формирование ассоциаций в процессе периодического или непрерывного культивирования микроорганизмов в питательной среде с постепенно возрастающей концентрацией токсических веществ и аутоиммобилизацией микроорганизмов на носителе, отличающийся тем, что, с целью увеличения деструктивной активности и расширения функциональных возможностей ассоциаций и их устойчивости к нагрузкам по токсическим веществам, культивирование

осуществляют в две стадии с изменением условий с периодических на непрерывные, при этом на первой стадии концентрацию токсических веществ повышают до уровня, при котором деструктивная активность ассоциации по отношению к наиболее стойкому к биодеградации токсиканту из числа присутствующих в среде снижается до 35-45% от максимально достигнутой в этих условиях величины, а затем процесс осуществляют в непрерывных условиях и концентрацию токсических веществ продолжают повышать до уровня, при котором деструктивная активность ас-

социации по отношению к этому же веществу снижается до 25-35% от максимально достигнутой в этих условиях величины, вслед за чем концентрацию токсических веществ снижают до величины, при которой ассоциация осуществляет максимальное разрушение наиболее устойчивого токсиканта, при этом процесс на второй стадии проводят с аутоиммобилизованной ассоциацией, полученной на первой стадии, для чего носитель с микроорганизмами непосредственно переносят из периодических условий в непрерывные.

Т а б л и ц а 1

Этап селек-ции	Исходная кон-центрация фено-ла, г/л		Разрушение фе-нола, %		Количество жизне-способных клеток, %	
	Условия культивирования					
	перио-дичес-кое	непрерыв-ное	перио-дичес-кое	непре-рывное	перио-дичес-кое	непрерыв-ное
I	0,5		20		75	
	0,75		33		64	
	1,0		42		43	
	1,25		54		39	
	1,5		60		31	
	1,75		55		25	
	2,00	2,00	45	50	20	31,4
	2,25					
	2,5	2,5		56		34,6
	2,75					
	3,00	3,00		59		38,2
		3,5		63		39,0
		4,0		65		46,8
		4,5		73		66,4
		5,0		78		69,3
		5,5		76		65,2
		6,0		75		64,4
		6,5		71		59,0
		7,0		65		47,4
	7,5		60		42,5	

Продолжение табл. 1

Этап селек-ции	Исходная кон-центрация фено-ла, г/л		Разрушение фе-нола, %		Количество жизне-способных клеток, %		
	Условия культивирования						
	перио-дичес-кое	непрерыв-ное	перио-дичес-кое	непрерыв-ное	перио-дичес-кое	непрерыв-ное	
II		8,0		58		37,8	
		8,5		56		37,4	
		9,0		54		37,0	
		9,5		52		36,2	
		10,0		50		35,8	
		10,5		49		34,2	
		11,0		48		31,5	
		11,5		48		31,5	
		12,0		45		25,0	
		12,5	11,5	40	45	20,0	25,0
		13,0	11,0	30	48	15,0	33,0
		13,5	10,5	25	50	-	35,0
		14,0	10,0	20	55	-	41,0
		9,5			60		52,0
		9,0			67		55,0
		8,5			69		57,0
		8,0			70		63,2
		7,5			73		64,3
		7,0			75		67,2
		6,5			81		71,2
		6,0			83		75,1
		5,5			87		76,3
		5,0			98		78,9
		4,5			98		78,9

Т а б л и ц а 2

Способ	C_1 , г/л	C_0 , г/л	$C_1 - C_0$, г/л	$(C_1 - C_0) D^*$, г.л.ч. ⁻¹
--------	-------------	-------------	----------------------	---

Извест-
ный 1,403 0,945 0,557 0,018

Предла-
гаемый 4,025 0,350 3,675 0,2178

П р и м е ч а н и е. $*D = 0,033$ ч.⁻¹.

Т а б л и ц а 3

Состав сточных вод (загрязни- тели)	Количество разрушенных ксе- нобиотиков, г/л		
	Известные способы		Предла- гаемый способ
	периоди- ческий	непре- рывный	

I	Фенол	1	6,3	12
	Метанол	2	13	20
	Формальдегид	2,5	12	18
II	Соль АГ	1	3	6
	ГМД	1	2	5
III	Метакрилат	0,5	1	3
	Стирол	0,3	0,7	2
IV	Бензол	0,5	1	4
	Крезол	0,7	2	5
V	Ароматические амины в т.ч. .			
	анилин	1	3	5

Редактор Н. Сегляник Составитель С. Лях Техред Л. Олийник Корректор Э. Лончакова

Заказ 3446/26 Тираж 520 Подписное

ВНИИНИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4