



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

(21) 4779053/13

(22) 11.12.89

(46) 30.03.92. Бюл. № 12

(71) Всесоюзный научно-исследовательский институт по охране вод

(72) Н.С.Горбань, А.М.Лопин, В.А.Поволоцкая, Г.Л.Тамарин, Л.И.Бапула и В.М.Дутчак

(53) 628.543 (088.8)

(56) Авторское свидетельство СССР № 1154221, кл. C 02 F 3/34, 1985.

Авторское свидетельство СССР № 1000420, кл. C 02 F 3/34, 1983.

(54) ШТАММ МИКРОМИЦЕТА *MONILIA CANDIDA*, ИСПОЛЗУЕМЫЙ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД ОТ СИНТЕТИЧЕСКИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

(57) Изобретение относится к биотехнологии, в частности к биологической очистке промышленных сточных вод от синтетических жирных кислот, и касается нового штамма микроскопических грибов, который может быть использован для аэробной биологической очистки сточных вод преимущественно нефтеперерабатывающих заводов.

Изобретение относится к биотехнологии, в частности к биологической очистке промышленных сточных вод от синтетических жирных кислот, и касается нового штамма микроскопических грибов, который может быть использован для аэробной биологической очистки сточных вод, преимущественно нефтеперерабатывающих заводов, имеющих цеха синтетических жирных кислот (СЖК), а также может быть использован для очистки сточных вод молочных заводов, производства синтети-

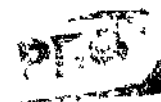
2

имеющих цеха синтетических жирных кислот, а также может быть использован для очистки сточных вод молочных заводов, производства синтетических жирозаменителей, содержащих жирные кислоты и их соли, спирты, альдегиды и другие органические соединения. Цель изобретения — штамм микроскопических грибов, способный утилизировать синтетические жирные кислоты для повышения степени очистки сточных вод производства синтетических жирных кислот и сокращать время наращивания биомассы в период пуска очистного сооружения. Изобретение заключается в использовании штамма микроскопических грибов *Monilia candida* ВКПМ F-407 на вспененном пенополиуретане в биологических сооружениях, что способствует в условиях производства ускорению наращивания биомассы в период пуска азотентов и других сооружений биологической очистки и интенсификации процесса очистки сточных вод, содержащих жирные кислоты в концентрации до 8 г/л. 3 табл.

ческих жирозаменителей, содержащих жирные кислоты и их соли, спирты, альдегиды и другие органические соединения.

Сточные воды производства синтетических жирных кислот относятся к категории высококонцентрированных вод. Общее количество примесей в сточных водах СЖК по бихроматной окисляемости (ХПК) составляет 8000–13000 мг О/л, по биохимическому потреблению кислорода (БПК) 5500–11500 мг О₂/л. Сточные воды характеризуются повышенной температурой (37–40°C). По кон-

(19) SU (11) 1723118 A1



центрации водородных ионов сточные воды кислые (рН 3,0–3,5). Даже после нейтрализации этих вод биологическая очистка невозможна в связи с их токсичностью для микроорганизмов активного ила. После нейтрализации требуется еще разбавление сточных вод в 20–25 раз, что в условиях производства осуществлять практически невозможно.

В отдельных случаях при залповых сбросах ХПК указанных вод могут достигать 25000 мг О/л. В таких случаях наблюдается массовая гибель организмов активного ила и вынос ила из очистных сооружений, после чего концентрация активного ила составляет 0,3–0,5 г/л. На восстановление концентрации активного ила и жизнедеятельности микроорганизмов требуется несколько месяцев.

Известно использование грибов *Trichoderma lignorum* с целью повышения степени очистки и сокращения удельного расхода воздуха при очистке сточных вод гидролизной промышленности. Сточные воды гидролизной промышленности также относятся к категории высококонцентрированных вод, в состав которых входят жирные кислоты. Процесс окисления компонентов сточных вод осуществляется мелкопузырчатой аэрацией, а часть биомассы возвращают на стадию окисления.

Наиболее близким к предлагаемому по технической сущности является способ биологической очистки сточных вод, содержащих синтетические жирные кислоты, обеспечивающий эффективную очистку при совместной обработке сточных вод, содержащих СЖК и нефтепродукты, за счет сокращения периода аэрации и расхода воздуха, повышения содержания растворенного кислорода и улучшения седиментационных свойств активного ила. Сточные воды, содержащие СЖК, нейтрализуют до рН 6–6,5, смешивают с культурой водоросли *Chlorella vulgaris* в количестве $(3-6) \cdot 10^6$ кл/мл и после выдерживания смесь водорослей со сточными водами флотируют и обрабатывают активным илом в аэротенке совместно со сточными водами, содержащими нефтепродукты. Сточные воды с культурой водоросли выдерживают 4–6 сут при t 20–25°C при естественном освещении с аэрацией в ночное время, после чего сточные воды с водорослями направляют в аэротенк. Обработку активным илом ведут при его концентрации 2,5–3,0 г/л при времени аэрации, равном 20–22 ч, и содержании растворенного кислорода во вторичном отстойнике 1–3 мг/л. При обработке поддерживают соотношение сточных вод, содержащих СЖК и нефтепро-

дукты, в пределах 1:6–1:9. На стадии смешения сточных вод с культурой водоросли *Chlorella vulgaris* вводят в качестве биогенного вещества фосфор в количестве 7–8 мг/л.

Однако водоросли *Chlorella vulgaris* являются менее активными деструкторами синтетических жирных кислот, чем грибы. При содержании в сточных водах по ХПК органических веществ до 8000 мг О/л в культуре с водорослями требуется 4–6 сут для снижения ХПК на 40%. При использовании штамма ВКПМ F-407 *Monilia candida* за 7 ч содержание органических веществ по ХПК снижается на 50–70%.

Грибы более устойчивы к низким значениям рН. При рН 5,5 отмечалась гибель водорослей, в то время как при подкислении среды до рН 5,5 гибели штамма *Monilia candida* не наблюдалось. В связи с этим для высококонцентрированных сточных вод производства синтетических жирных кислот более перспективно применение штамма гриба.

Указанные штаммы организмов, применяемые для очистки сточных вод, содержащих большое количество органических примесей, в том числе жирных кислот, являются мало активными деструкторами и могут применяться для очистки сточных вод с меньшим содержанием органических веществ. Использование их для очистки высококонцентрированных сточных вод требует довольно длительного времени пребывания указанных вод в очистном сооружении, что влечет за собой необходимость увеличения объема очистных сооружений.

Целью изобретения является штамм микроскопических грибов *Monilia candida* ВКПМ F-407, способный утилизировать синтетические жирные кислоты для повышения степени очистки сточных вод производства синтетических жирных кислот и сокращать время наращивания биомассы в период пуска очистного сооружения.

Штамм выделен из лабораторной установки, в которой осуществлялась очистка натуральных сточных вод производства синтетических жирных кислот путем селекции.

Основными показателями для отбора активного штамма-деструктора служили скорость разложения синтетических жирных кислот, заметное количественное преобладание колоний на питательной среде по сравнению с другими микроорганизмами, а также частота встречаемости при повторных посевах.

Выделенный штамм усваивает в качестве источника углерода и энергии синтетические жирные кислоты. На среде Чапека при

уменьшении концентрации сахарозы с 20 г/л до 1 и 2,5 г/л и введении сточной воды производства синтетических жирных кислот, содержащей органических примесей по ХПК 600 мг О/л, штамм хорошо растет, о чем свидетельствует увеличение биомассы и снижение концентрации органических веществ по ХПК. При исключении из среды Чапека сахарозы и введении в качестве единственного источника углерода сточной воды производства СЖК она хорошо используется штаммом в качестве источника углеродного питания, хотя наращивание биомассы происходило более медленно. Результаты развития штамма *Monilia candida* на среде Чапека при различных концентрациях сахарозы с добавлением сточной воды производства СЖК представлены в табл. 1.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение в лабораторную установку штамма *M. candida* ВКПМ F-407 в количестве 170 мг клеток/л позволяет без предварительной адаптации проводить очистку сточной воды, содержащей синтетические жирные кислоты C₁-C₁₄ в количестве до 600 мг О/л по бихроматной окисляемости.

Оптимальной концентрацией синтетических жирных кислот для развития штамма при непрерывном культивировании его в лабораторной установке является 600 мг/л, при повышении концентрации жирных кислот до 1 г/л эффективность очистки сохраняется высокая — до 80%, но отмечается вынос ила. При иммобилизации штамма на синтетическом вспененном материале окислительная мощность сооружения значительно повышается в результате того, что вынос ила прекращается и концентрация жирных кислот может быть увеличена до 8 г/л.

Полученный штамм микроскопического гриба *Monilia candida* депонирован во Всесоюзной коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) под номером F-407.

Штамм *Monilia candida* ВКПМ № F-407 характеризуется следующими культурально-морфологическими и физиолого-биохимическими признаками.

Культурально-морфологические признаки. Колонии шерстистые, белого цвета, хорошо растут на суслоагаре за 24 ч диаметр колонии 10 мм, 48 ч — 25 мм, 72 ч — 30 мм, на 5 сут — 50 мм, на 8 сут — 75 мм (при 25°C). Хорошо растет на овсяном агаре, на твердой среде Чапека — рост замедленный. На жидкой среде Чапека с добавлением сточной воды, содержащей жирные кислоты, растет хорошо.

Мицелий стелющийся, септированный, распространяющийся внутри питательной среды и образующий на ее поверхности плотные, частично сливающиеся дерновинки. Гифы воздушного мицелия прямостоящие, маловетвящиеся, септированные. Спороношение бесполое. Начало образования конидий на третьи сутки при выращивании на сусло-агаре при 23–25°C. Конидии яйцевидные, одноклеточные, бесцветные, 6–7 x 5 мк.

Физиолого-биохимические признаки. Аэроб. Температурный диапазон роста 20–30°C. Оптимальная температура роста 23–27°C. Максимальная скорость роста при 23–27°C. Оптимум pH 5,5–7,0.

Отношение к источникам углерода. Хорошо усваивает и растет на глюкозе, сахарозе, лактозе, фруктозе, хуже растет на манните. Хорошо усваивает и растет на углероде синтетических жирных кислот C₁-C₁₄ (сточные воды производства синтетических жирных кислот). Использует минеральный и органический азот, пелтон использует в качестве источника азота и углерода. На сусло-агаре хорошо растет без стимуляторов, на среде Чапека рост замедленный, значительно ускоряется при добавлении биотина.

Хорошо хранится в лиофильно высушенном состоянии. Генетические особенности (ауксотрофность) — прототроф.

Активность штамма. Штамм-деструктор синтетических жирных кислот C₁-C₁₄ используется для очистки высококонцентрированных сточных вод, содержащих жирные кислоты. Полезное действие деструктор сохраняет в течение 4,5 лет.

Сущность изобретения поясняется следующими примерами обработки сточных вод, содержащих синтетические жирные кислоты, без использования и с использованием штамма *Monilia candida* ВКПМ № F-407.

Пример 1. В лабораторный азротенк-отстойник загружают активный ил, предварительно отобраный из городских очистных сооружений, из расчета 1 г/л, 2 сут аэрируют и подают на азротенк жидкую минеральную питательную среду, содержащую, мг/л: (NH₄)₂SO₄ — 400, K₂HPO₄ — 100, MgSO₄ — 50, NaCl — 50, следы FeCl₃ и 500 мг/л сахарозы в качестве источника углерода. Через 2 сут в качестве источника углерода в указанную среду вводят сточную воду с содержанием органических веществ по ХПК 360–370 мг О/л. Время пребывания сточной воды в азротенке 6 ч. Наблюдения за работой лабораторной установки проводят в течение 30 дней. Нагрузку на азротенк

повышают через 20, а затем через каждые 5 дней, так как раньше повышать нагрузку нецелесообразно из-за невысокой эффективности очистки, что видно из табл. 2.

Из приведенных результатов видно, что первые сутки эффективность очистки низкая, что свидетельствует о необходимости осуществлять биохимическую очистку при проведении предварительной адаптации активного ила к жирным кислотам. Только на 25-е сут при повышении нагрузки по ХПК до 550 мг О/л процесс биохимической очистки начинает стабилизироваться и эффективность снижения органических веществ по ХПК составляет 77%. Повышение нагрузки по ХПК на 30-е сут приводит к снижению эффективности очистки. Как видно из таблицы, концентрация биомассы в течение опыта уменьшается, так как наблюдается вынос ила, что также свидетельствует о неудовлетворительной работе аэротенка.

П р и м е р 2. Штамм *Monilia candida* ВКПМ F-407 выращивают на среде Чапека, содержащей на 1 л водопроводной воды 5 г сахарозы, 100 мл воды производства синтетических жирных кислот, 2 г NaNO_3 , 1 г KH_2PO_4 , 0,5 г MgSO_4 , следы FeSO_4 при 25°C в 5 сут. Затем пятисуточную суспензию вносят в аэротенк-отстойник из расчета, чтобы биомасса штамма была в пределах 0,6–0,8 г/л. В аэротенк непрерывно подают сточную воду, которую подвергают биохимической очистке в аэротенке в течение 6 ч. Как видно из табл. 3, биомасса штамма гриба в начале опыта составляет 0,63 г/л. Через 6 ч концентрация органических веществ снижается на 56% по ХПК, а по БПК на 63%. На вторые сутки концентрация органических веществ в сточной воде увеличивается до 650 мг О/л. Эффективность очистки 93% по ХПК и 95% по БПК. Концентрация органических веществ через 20 сут составляет до 1150 мг О/л и в дальнейшем увеличивается до 1440 мг О/л. Очистку сточных вод от кислот проводят в нестерильных условиях и помимо штамма *M. candida* ВКПМ F-407 в биоценозе сооружения развиваются бактерии и простейшие, но при посевах проб из установки *Monilia candida* постоянно обна-

руживается в значительных количествах, что свидетельствует о том, что этот организм хорошо развивается на жирных кислотах.

Биомасса микроорганизмов на протяжении опыта увеличивается, что свидетельствует об использовании ими жирных кислот, содержащихся в сточной воде, в качестве источника углеродного питания.

Введение в аэротенк активного штамма-деструктора жирных кислот даже при невысокой исходной биомассе его 0,63 г/л позволяет в более короткие сроки увеличить нагрузку органических веществ, содержащихся в сточных водах производства синтетических жирных кислот, на аэротенк. Из табл. 3 видно, что с повышением концентрации органических веществ в сточной воде, подаваемой в аэротенк, увеличивается иловый индекс и уменьшается концентрация биомассы, что связано с выносом ила из аэротенка. Эффективность очистки при высоких содержаниях органических веществ несколько уменьшается, но в общем остается довольно высокой. Недостатком работы установки является ухудшение седиментационных свойств активного ила и вынос его из аэротенка.

При иммобилизации штамма *Monilia candida* на вспененном пенополиуретане клетки мицелия прикрепляются к пенополиуретану, проникая в поры его, и вынос ила прекращается. Использование активного штамма-деструктора, иммобилизованного на носителе (пенополиуретане), позволит в условиях производства ускорить процесс наращивания биомассы в период пуска аэротенков и других сооружений биологической очистки, на которые будут подаваться концентрированные сточные воды, содержащие жирные кислоты, и интенсифицировать процесс очистки указанных сточных вод.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Штамм микромицета *Monilia candida* ВКПМ F-407, используемый для очистки сточных вод от синтетических жирных кислот.

50

Т а б л и ц а 1

Рост штамма *Monilia candida* на среде Чапека при различных концентрациях
сахарозы с добавлением воды производства синтетических
жирных кислот

№ п/п	Сахаро- за, г/л	Темпе- ратура, °C	Время эксперимента и показатели											
			День постановки			3-е сутки			5-е сутки			7-е сутки		
			pH	сухой вес, мг/л	ХПК, мг O/л	pH	сухой вес, мг/л	ХПК, мг O/л	pH	сухой вес, мг/л	ХПК, мг O/л	pH	сухой вес, мг/л	ХПК, мг O/л
1	1	20	6,82	170	1800	6,76	190	1656	6,65	200	1024	6,52	280	396
2	2,5	"	6,8	170	2920	6,78	196	2800	6,65	340	2400	5,9	366	1200
3	5,0	"	6,78	175	5300	6,78	200	3520	6,63	400	2200	6,34	450	2100
4	20,0	"	6,71	178	2350	6,71	430	16480	6,53	496	15200	6,25	680	14800
5	Отсутст- вует	"	6,7	170	920	6,7	175	910	6,68	190	720	6,5	200	380
6	2,5	30	6,8	175	2920	6,67	312	2400	5,41	604	1440	6,37	750	1200
7	2,5	40	6,8	175	2820	6,38	335	2420	5,51	440	1920	5,54	500	1760
8	2,5	25	6,7	178	2925	6,7	310	2450	5,42	600	1445	6,38	1480	1020

25

9

1723118

10

Т а б л и ц а 2

Очистка сточных вод производства синтетических жирных кислот активным илом без предварительной адаптации

№ п/п	Показатели	Время проведения исследований, в сутках							
		1	2	3	5	10	20	25	30
1	pH	6,8	6,4	6,4	6,3	6,3	6,35	6,3	6,4
2	XПК, мг O ₂ /л, поступ.	360	368	370	370	370	370	550	675
3	XПК, мг O ₂ /л, выходящая	346	330	258	260	125	105	123	192
4	Концентрация ила, г/л	1,0	0,92	0,80	0,63	0,5	0,58	0,62	0,7
5	Иловый индекс, мл/г сухого вещества	80	85	87	88	80	85	85	80
6	Эффективность снижения органических веществ по XПК, %	3	10	29	30	60	71	77	71

Т а б л и ц а 3

Использование штамма *Noctilia candida* для очистки сточных вод производства синтетических жирных кислот

Показатели	День постановки	Время проведения опыта, сут								
		2	3	4	6	10	12	14	20	36
pH	6,95	6,95	6,5	6,2	6,3	6,1	6,2	6,3	6,2	6,2
XПК, мг O ₂ /л, поступ.	368	650	630	630	635	630	835	830	1150	1440
XПК, мг O ₂ /л, выход	160	40	35	30	30,5	120	100	95	180	340
Биомасса, г/л	0,63	0,76	1,16	1,17	1,2	1,4	1,95	2,1	2,9	1,2
Иловый индекс, мл/г	80	80	85	85	87	140	145	150	380	250
Азот аммонийный, мг/л	П - 46,3	45	43	38	38	43	40	40	39,5	40
Азот нитратов, мг/л	В - 31,4	26	20,5	18,5	18	20,5	20	17,5	16,0	15,2
Азот нитратов, мг/л	П - 0	П - 0	1,2	3,0	0	0	0	0	0	0
Азот нитратов, мг/л	В - 20	В - 15	10	8,5	10	15,2	15,2	10,2	9,5	8,3
Азот нитратов, мг/л	П - 0	П - 0	0	0	0	0	0	0	0	0
БПК ₅ , мг O ₂ /л	В - 5	В - 5,2	3,2	2,2	2,2	2,2	2,0	3,1	3,2	2,2
БПК ₅ , мг O ₂ /л	П - 290	585	580	582	585	622,5	625,5	620	662,5	1050
БПК ₅ , мг O ₂ /л	В - 105	26,5	25,5	10,5	10,5	30,3	65,5	60,3	102,5	220,5
Эффективность снижения орг. веществ, %	56	93	94	95	95	85	88	88	84	76
Снижение по БПК ₅ , %	63	95	95	96	96	87	89	90	88	79

Редактор Н.Горват Составитель И.Болотина Техред М.Моргентал Корректор Э.Лончакова

Заказ 1042 Тираж Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101