

**П.І. Гвоздяк, О.В.Сапура**

Інститут колоїдної хімії та хімії води імені А.В. Думанського НАН України,  
бульвар Вернадського, 42. Київ, 03142, Україна, тел.: +38 (044) 424 35 79,  
e-mail: gvozdyak@ukr.net

## **ПРОСТИЙ МЕТОД ВИЯВЛЕННЯ ТА ОЦІНКИ ІНТЕНСИВНОСТІ АНАЕРОБНИХ ПРОЦЕСІВ, ЩО СУПРОВОДЖУЮТЬСЯ ВИДІЛЕННЯМ ГАЗІВ**

*Запропоновано метод виявлення та оцінки інтенсивності анаеробних процесів, що супроводжуються утворенням газів ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$  тощо). Для цього в попередньо частково проградувану PET-пляшку поміщають рідину з усіма необхідними інгредієнтами поживного середовища і посівний матеріал загальним об'ємом 4/5 ємності пляшки, стисканням бокових поверхонь пляшки видаляють з неї повітря та щільно закривають пробкою. Таку пляшку поміщають у термостат і спостерігають за накопиченням у ній газів, які за потребою аналізують. Кількість дослідів, їх повторюваність, а також число контрольних проб практично необмежені. За допомогою такого методу вперше в Україні виявлено ANAMMOX-процес (*Anaerobic Ammonium Oxidation*) у спорудах біологічного очищення стічних вод, а також продемонстровано можливість анаеробного очищення промислових стічних вод пивзаводу з підвищеною концентрацією (до 2500 мг/л) хлор-іону анаеробним гранульованим активованим мулом.*

*К л ю ч о в і с л о в а:* анаеробні процеси, газоутворення, очищення води, ANAMMOX.

В біологічному очищенні стічних вод останнім часом набувають усе більшого застосування анаеробні методи. Це пов'язано з тим, що вони мають певні незаперечні переваги у порівнянні з аеробними технологіями:

- вимагають значно менших витрат електроенергії (не потрібна аерація);
- утворюється у декілька разів менше надлишкової біомаси, утилізація якої спричиняє певні труднощі;
- синтезуються енергетично цінні гази ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ );
- продуктивність перевищує таку аеробних у десятки разів(!) і сягає подеколи понад 100 кг ХСК/м<sup>3</sup> добу, а ефективність процесу за зниженням ХСК (хімічне споживання кисню) доходить до 80%;
- повітряний басейн не забруднюється біологічними аерозолями;
- саме за анаеробних умов можлива деструкція нітро- та хлорорганічних сполук і деяких інших ксенобіотиків;
- анаеробно здійснюються процеси звільнення води від нітрату, нітриту, амонію, хлоратів, сульфатів, арсенатів тощо;
- анаеробні процеси використовуються для очищення стічних вод від іонів важких металів, радіонуклідів.



Як відомо, після анаеробної обробки води обов'язково необхідне аеробне її доочищення, проте воно потребує незрівнянно менших затрат, ніж виключно аеробне очищення вихідних стічних вод.

Слід відмітити, що дослідження анаеробних процесів очищення води стикається зі значними труднощами, пов'язаними з необхідністю створення анаеробних умов, з застосуванням доволі складних і дорогих пристроїв та обладнання. Особливо це стосується випадків, коли йдеться про безкисневі процеси, які забезпечуються хемолітоавтотрофними анаеробними мікроорганізмами, що повільно ростуть, наприклад, *Candidatus Brocadia anammoxidans*, *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* та іншими так званими ANAMMOX-бактеріями, або при вивченні впливу стимулюючих чи інгібуючих речовин на протікання анаеробних процесів очищення води.

Метою даної роботи було розробити прості засоби виявлення анаеробних процесів, у тому числі ANAMMOX, при очищенні стічних вод, а також оцінки інтенсивності виділення газів в анаеробних умовах обробки стічної води, у яку надходять ті чи інші стимулятори або інгібітори біологічного процесу.

### Матеріали і методи

Досліди проводили з використанням, як найпростіших біореакторів, РЕТ (поліетилентерефталатних)-пляшок місткістю від 0,5 до 6 л, які на 4/5 об'єму заповнювали відповідним поживним середовищем і посівним матеріалом, повністю витискували з пляшок повітря, щільно закривали пробками, розміщали в термостаті та через певні проміжки часу визначали об'єм газу, що виділився в результаті біологічного процесу і накопичився в пляшках-біореакторах.

Для виявлення ANAMMOX-процесу готували поживні середовища такого складу (в мг на 1 л водопровідної води):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 200;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 200;  $\text{NaHCO}_3$  – 1000;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 150;  $\text{NaNO}_2$  – 250. Контролями служили середовища 1) без  $\text{NH}_4\text{Cl}$  та  $\text{NaNO}_2$ ; 2) без  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; 3) без  $\text{NaNO}_2$ .

Як посівний матеріал брали активований мул Бортницької станції аерації (м. Київ), біологічних очисних споруд міста Чернігова, Київського картонного комбінату (м. Обухів Київської області), с.м.т. Новий Світ і Маріупольського коксохімічного комбінату (Донецька область). Використовували також гідробіонтів активованого мулу, іммобілізованих на волокнистому носіїв типу ВІА, для чого носії попередньо поміщали на 15 діб у водно-муловий потік на виході з аеротенків. Маса посівного матеріалу складала 15% від загальної маси рідини у біореакторі. Температура інкубації – 30 °С.

Для визначення впливу концентрації хлор-іону на перебіг анаеробного очищення стічних вод пивоварного заводу в пляшки-біореактори всипали розраховану масу  $\text{NaCl}$  з тим, аби концентрація  $\text{Cl}^-$  в об'ємі стічної води складала (в мг/л): 350, 500, 750, 1000, 1500, 2000 та 2500. У ці біореактори доливали, розчиняючи сіль, суміш стічних вод і гранульованого анаеробного активованого мулу (у співвідношенні 10:1, відповідно), витісняли (натисканням на боки пляшки) повітря, щільно закривали пробкою і ставили в термостат (42 °С). Контролем служили біореактори зі стічною водою та посівним матеріалом, але без додавання  $\text{NaCl}$ .

Аналіз біогазів проводили на газовому хроматографі 6890 N фірми Agilent. Детектор – катарометр. Температура детектору 200 °С. Газ-носій – аргон. Аналіз легких газів проводили на колонці MOLSIV довжиною 15 м, вуглеводнів – на колонці PLOTQ довжиною 15 м.



### Результати та їх обговорення

Нещодавнє виявлення ANAMMOX-бартерій в складі біоценозів очисних споруд ряду міст Голландії та інших країн [5] та інтенсивне вивчення ANAMMOX-процесів [2–4] і вдалі спроби практичного їх застосування [6] спонукали нас до пошуку такого роду процесів на станціях аерації в Україні.

Класичні методи дослідження безкисневих процесів в лабораторних установках для вивчення спиртового бродіння [1] стримували постановку численних розширених експериментів, і тому ми вдалися до максимально спрощеного варіанту [7], який дозволив провести масштабні дослідження вільноплаваючих та іммобілізованих на волокнистих носіях ВІА активованих мулів станцій біологічного очищення міських стічних вод (міст Києва, Чернігова), промислових стічних вод коксохімічного виробництва (м. Маріуполя), картонного, біохімічного комбінатів (м. Обухов, Київська область), складних стічних вод, що очищаються за біотехнологією одночасної нітри-денітрифікації (ОНД) (с.м.т. Новий Світ, Донецької області).

Результати експериментів підтвердили наявність ANAMMOX-процесу в усіх біологічних спорудах, особливо при застосуванні як посівного матеріалу мулів, іммобілізованих на волокнистому носіїві. В очисних спорудах міст Чернігова і Обухова ANAMMOX-процеси не надто яскраво виражені. Дещо інтенсивніше відбувається анаеробне окислення амонію нітритом активованими мулами біологічних очисних споруд с.м.т. Новий Світ і коксохімічного заводу Маріуполя. Найкращі результати показав іммобілізований активований мул Бортницької станції аерації.

Методом газової хроматографії показано, що до зібраного біогазу входять (в %):  $N_2$  – 93,62;  $CH_4$  – 3,58;  $CO_2$  – 1,49;  $C_2H_4$  – 0,07;  $H_2$  – 1,24. Високі концентрації азоту (від 58 до 95%) в біогазі зафіксовано і в пробах з активованим мулом інших станцій очищення стічних вод, що однозначно свідчить про присутність в їх аеротенках ANAMMOX-бактерій, адже при додаванні до поживного середовища з посівним матеріалом (вільноплаваючим чи іммобілізованим активованим мулом) тільки амонійного, або тільки нітратного азоту утворення газів не спостерігається. Не відбувається і чисто хімічний процес між амонієм та нітритом з виділенням молекулярного азоту в мінеральному середовищі без інокуляції активованим мулом.

Перед запуском в експлуатацію споруд з біологічного очищення промислових стічних вод одного з пивзаводів в Україні виникло побоювання, чи зможе гранульований анаеробний мул з іншого харчового виробництва, де в стічних водах стабільно низька концентрація хлор-іону (до 250 мг/л), успішно працювати в стоках пивзаводу, де концентрація хлор-іону коливається в межах 350–800 мг/л. Для того, щоби зняти будь-які застереження з цього приводу, було проведено дослідження (з використанням ПЕТ-пляшок-біореакторів) інтенсивності анаеробного процесу обробки реальних стоків пивзаводу з концентрацією хлор-іону до 2500 мг/л. Виявилось, що швидкість накопичення біогазу в усіх експериментальних пробах фактично однакова і не відрізняється від такої контрольних проб.

Таким чином, отримані результати дають змогу стверджувати можливість простим методом, використовуючи ПЕТ-пляшки як своєрідні біореактори, досліджувати анаеробні біохімічні реакції, що супроводжуються виділенням газів. Цей метод дозволяє одночасно ставити масові, розгалужені експерименти з різноманітними контролями, вивчати вплив будь-яких технологічних параметрів і хімічних речовин – інгібіторів чи стимуляторів – на анаеробні процеси, зокрема, очищення стічних вод. За допомогою запропонованого методу вперше в Україні доведено наявність



АНАММОХ-бактерій в діючих спорудах біохімічного очищення побутових і деяких промислових стічних вод. На прикладі промстоків пивзаводу доведено можливість анаеробної обробки цих вод при суттєвому (понад 7-кратному) перевищенні в них вмісту хлор-іону.

*Автори висловлюють щире подяку к.х.н. В.П. Демчиній (Інститут газу НАН України) за проведення аналізу біогазів.*

## ЛІТЕРАТУРА

1. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології. — К. Либідь, 2003. — 97 с.
2. Гладченко М.А., Калюжный С.В. Новые процессы биокаталитической очистки сточных вод от азотных загрязнений // Катализ в промышленности — 2006. — № 1. — С. 36—41.
3. Михайловська М. В., Гвоздяк П. І. Порівняльний аналіз методів біологічного очищення стічних вод від сполук азоту // Наукові вісті НТУУ «КП». — 2007. — № 2. — С. 109—117.
4. Jetten M.S.M., Cirpust I., Kartal B., van Niftrikt L., van de Pas-Schoonen K.T., Sliekerst O., Haaijer S., van der Star W., Schmid M., van de Vossenberg J., Schmidt I., Harhangi H., van Loosdrecht M., Gijls Kuenen., Op den Camp H, Strous M. 1994—2004: 10 years of research on the anaerobic oxidation of ammonium // 10th Nitrogen Cycle Meeting 2004. Biochemical Society. Transactions — 2005. — V. 33, part 1 — P. 119—123.
5. Kuenen J. G. Anammox bacteria: from discovery to application// Nature Reviews / Microbiology. — 2008. — V. 6. — P. 320—326.
6. 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. — V. 41, № 18 — P. 4149—4163.
7. Гвоздяк П.І., Сапура О.В., Глоба Л.І. заявка № а 2008 12869 на патент України, від 04/11/2008р. Спосіб визначення інтенсивності біохімічного процесу. МПК(2008) G 01, N 7/14.

УДК 628.16.098.4

**П.И. Гвоздяк, Е.В. Сапура**

Институт коллоидной химии и химии воды имени А.В. Думанского НАН Украины,  
бульв. Вернадского, 42, Киев, 03142, Украина,  
тел.: +38 (044) 424 35 79, e-mail: gvozdyak@ukr.net

## ПРОСТОЙ МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ И ОЦЕНКИ ИНТЕНСИВНОСТИ АНАЭРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ, КОТОРЫЕ СОПРОВОЖДАЮТСЯ ВЫДЕЛЕНИЕМ ГАЗОВ

**Реферат**

Предложен метод выявления и оценки интенсивности анаэробных процессов, которые сопровождаются образованием газов ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$  и т.п.). Для этого в предварительно частично проградуированную PET-бутылку помещают жидкость со всеми необходимыми ингредиентами питательной среды и посевной материал общим объемом 4/5 емкости бутылки, сжиманием боковых поверхностей бутылки удаляют из нее воздух и плотно закрывают пробкой. Такую бутылку помещают в



термостат и наблюдают за накоплением в ней газов, которые по необходимости анализируют. С помощью такого метода впервые в Украине выявлен ANAMMOX-процесс (Anaerobic Ammonium Oxidation) в сооружениях биологической очистки сточных вод, а также продемонстрирована возможность анаэробной очистки промышленных сточных вод пивзавода с повышенной концентрацией (до 2500 мг/л) хлор-иона анаэробным гранулированным активированным илом.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** анаэробные процессы, газообразование, очистка воды, ANAMMOX.

**P.I. Gvozdyak, O.V. Sapura**

A.V. Dumansky Institute of Colloid and Water Chemistry of NASU,  
Vernadsky ave., 42, 03142, Kyiv, Ukraine,  
tel.: +38 (044) 424 35 79, e-mail: gvozdyak@ukr.net

## **SIMPLE METHOD OF DETECTION AND INTENSIVITY ESTIMATION OF ANAEROBIC PROCESSES ACCOMPANIED BY GAS RELEASE**

### **Summary**

The method of detection and intensity estimation of anaerobic processes accompanied by formation of gases (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> etc.) is proposed. This method is realized in such a way: the PET-bottle is filled by 4/5 of its volume with the nutrients solution or wastewater, anaerobic bacteria, activated sludge or other anaerobic biocenoses. Thereafter by simply squeezing of a PET-bottle the air is removed from it and the bottle is tightly corked. The bottle is then placed into a thermostat and the levels of gas generated and accumulated in this anaerobic bioreactor are periodically measured. Whenever necessary gas composition and concentration change of substances in the water (medium) are analyzed. Thanks to the method for the first time in Ukraine there has been identified the presence of ANAMMOX (Anaerobic Ammonium Oxidation) bacteria in activated sludge of biological treatment facilities. By this method the possibility of anaerobic treatment of beer-brewing wastewater with increased concentration of chloride-ion (up 2500 mg/l) was proved.

**К e y w o r d s:** anaerobic processes, biogas, water purification, ANAMMOX.

