

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет

Л. Д. Пляцук,
Є. Ю. Черниш

**ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ:
принципи створення біотехнологічних виробництв**

Навчальний посібник

Рекомендовано вченою радою Сумського державного університету



Суми
Сумський державний університет
2018

УДК [602.4:502/504](075.8)

П40

Рецензенти:

В. Г. Скляр – доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри екології та ботаніки Сумського національного аграрного університету;

Л. Л. Гурець – доктор технічних наук, доцент кафедри прикладної екології Сумського державного університету

*Рекомендовано до видання
вченою радою Сумського державного університету
як навчальний посібник
(протокол № 2 від 13 вересня 2018 року)*

Пляцук Л. Д.

П40 Екологічна біотехнологія: принципи створення біотехнологічних виробництв : навчальний посібник / Л. Д. Пляцук, Є. Ю. Черниш. – Суми : Сумський державний університет, 2018. – 293 с.

ISBN 978-966-657-739-2

Навчальний посібник адресовано студентам-екологам, які вивчають технології захисту довкілля. Метою посібника є одержання студентами нових знань щодо основ розроблення біотехнологічних процесів захисту довкілля та біохімічного перероблення відходів, типових завдань, методів реалізації біотехнологічних виробництв екологічного спрямування в різних галузях промисловості та сільському господарстві. Також цей посібник спрямований на освоєння методів розрахунків апаратного оснащення екологічних біотехнологій.

Навчальний посібник призначений для студентів-екологів закладів вищої освіти.

УДК [602.4:502/504](075.8)

© Пляцук Л. Д., Черниш Є. Ю., 2018

ISBN 978-966-657-739-2

© Сумський державний університет, 2018

ЗМІСТ

	С.
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ВСТУП ДО ЕКОЛОГІЧНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ.....	8
1.1. Предмет, цілі та завдання екологічної біотехнології.....	8
1.2. Основні елементи біотехнологічних процесів.....	13
РОЗДІЛ 2. БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ ЕКОЛОГІЧНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ.....	15
2.1. Мікроорганізми.....	15
2.1.1. Використання різних фізіологічних груп мікроорганізмів.....	15
2.1.2. Біофізичні основи росту мікробної культури.....	18
2.1.3. Використання мікроорганізмів у процесах екологічної біотехнології.....	28
2.2. Мікробні асоціації та консорціуми.....	30
2.2.1. Окисно-відновні процеси в мікробіологічній системі.....	37
2.2.2. Енергетика мікробіологічної системи.....	41
2.2.3. Аеробне угруповання мікроорганізмів.....	44
2.2.4. Анаеробне угруповання мікроорганізмів.....	48
2.2.5. Бактеріальний окиснювальний фільтр.....	53
2.2.6. Застосування мікробних асоціацій у біотехнологіях захисту довкілля.....	55
2.3. Віруси, їх використання в процесах екологізації сільського господарства.....	64
2.4. Ферменти.....	65

2.4.1. Одержання та використання ферментних систем в екологічній біотехнології.....	65
2.4.2. Біофізичні основи ферментативних реакцій.....	69
2.5. Рослини.....	72
2.5.1. Фіторемедіаційні процеси.....	72
2.5.2. Технологія біоплато.....	77
2.6. Екологічні аспекти використання біокультур мікродоростей.....	82
2.7. Санітарно-гігієнічне оцінювання біологічного об'єкта.....	84
2.7.1. Комплексне оцінювання промислових штамів.....	84
2.7.2. Обґрунтування ГДК живих клітин мікроорганізмів у повітрі робочої зони та в атмосферному повітрі.....	86
РОЗДІЛ 3. СУБСТРАТИ ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЙ.....	93
3.1. Відходи як субстрат.....	93
3.2. Принципи приготування живильних середовищ для штамів-інокулянтів.....	94
РОЗДІЛ 4. ПРОЦЕСИ АЕРОБНОЇ ТА АНАЕРОБНОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ ВІДХОДІВ.....	100
4.1. Біохімічні процеси окиснення органічних речовин в аеробних та анаеробних умовах.....	100
4.2. Теплові процеси аеробного й анаеробного очищення щільних і рідких органічних відходів.....	110
4.3. Технологічні особливості процесів аеробної та анаеробної ферментації.....	117
4.4. Твердофазова та рідиннофазова ферментація – застосування у біотехнологічних процесах захисту довкілля....	133

РОЗДІЛ 5. ІНЖЕНЕРНА РЕАЛІЗАЦІЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ.....	140
5.1. Апаратне оснащення біотехнологічних виробництв.....	140
5.2. Аерувальні системи очищення стічних вод.....	142
5.2.1. Класифікація аеротенків.....	142
5.2.2. Кисневий режим в аеротенках.....	151
5.2.3. Рециркуляційний мул. Ступінь рециркуляції.....	160
5.2.4. Питомі навантаження для біологічного очищення споруд.....	164
5.3. Анаеробні системи перероблення відходів.....	168
5.3.1. Тенденції розвитку конструкцій біогазових установок....	168
5.3.2. Параметри оптимізації процесу отримання біогазу.....	189
5.3.3. Розрахунок основних параметрів роботи біогазових установок.....	196
5.3.4. Тепловий розрахунок метантенка.....	210
5.3.5. Термодинамічний розрахунок метантенка.....	214
5.4. Біоочищення газоповітряних викидів.....	217
5.5. Біовилуговування корисних компонентів із мінеральної сировини.....	221
5.5.1. Метод поверхневого вилуговування куп і відвалів.....	224
5.5.2. Розвиток екологічно безпечних технологій біовилуговування фосфорвмісної сировини природнього та антропогенного походження.....	230
РОЗДІЛ 6. ПРОДУКТИВНІСТЬ ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ.....	235
6.1. Продукти екологічної біотехнології.....	235

6.1.1. Біогаз.....	237
6.1.2. Біогумус.....	238
6.1.3. Біопрепарати.....	240
6.2. Критерії оцінювання ефективності біотехнологічних процесів.....	244
Розділ 7. ЕКОЛОГІЧНА БЕЗПЕКА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ.....	250
7.1. Інженерно-технологічне забезпечення безпеки біотехнологічних виробництв.....	250
7.1.1. Системи очищення газоповітряних викидів біотехнологічних виробництв.....	255
7.1.2. Системи очищення стічних вод біотехнологічних виробництв.....	265
7.1.3. Знешкодження твердих відходів біотехнологічних виробництв.....	275
7.2. Оцінювання санітарно-мікробіологічного стану довкілля біотехнологічних виробництв.....	277
ВИСНОВКИ.....	281
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	284

ВСТУП

Індустріалізація господарської діяльності пов'язана зі збільшенням споживання енергії, деградацією сільськогосподарських угідь, втратою біорізноманіття на урбанізованих територіях, генерацією нових стаціонарних і пересувних джерел викидів в атмосферу та скидів у водойми забруднюючих речовин. Зменшення лісових масивів унаслідок вирубування лісів негативно впливає на водний режим, призводить до зміни ландшафту, знищення багатьох видів фауни і флори, сприяє погіршенню газообміну в атмосфері та самоочищення повітря. Забруднення атмосфери діоксидом сірки призводить до «кислотних дощів», атомна енергія небезпечна радіоактивним зараженням середовища в разі аварій. Будівництво гідроелектростанцій пов'язане із затопленням сільськогосподарських угідь, зменшенням рибних ресурсів, погіршенням самоочищення води та низкою інших наслідків. У великих містах значну екологічну проблему становлять тверді й рідкі відходи. Щодня кожен міський житель у середньому викидає 2–3 кг різних відходів, значну частину яких становлять органічні відходи та полімерні синтетичні. Забруднення довкілля в багатьох регіонах досягає критичної межі.

Залучення біотехнологій в розвиток урбанізованих територій може істотно впливати на вирішення екологічних проблем, дозволить здійснювати систему профілактичних заходів і ліквідувати наслідки забруднення довкілля.

Досягнення екології як науки увійшли до наукового базису сучасної біотехнології і сприяли розвитку потужного напрямку екологічних біотехнологій.

РОЗДІЛ 1

ВСТУП ДО ЕКОЛОГІЧНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

1.1. Предмет, цілі та завдання екологічної біотехнології

Одним із найважливіших напрямів біотехнології є обмеження масштабів забруднення нашої планети промисловими, сільськогосподарськими і побутовими відходами, токсичними компонентами автомобільних вихлопів. Так виникає нова наукова дисципліна – *екологічна біотехнологія («сіра» біотехнологія)*, що є новітнім підходом до охорони та збереження довкілля при спільному використанні досягнень біохімії, мікробіології, генетичної інженерії, екології й хімічних технологій.

Таким чином, специфічне застосування біотехнологічних методів для вирішення проблем довкілля, таких як перероблення відходів, очищення води, запобігання забрудненням, становить *предмет екологічної біотехнології*. На рисунку 1.1 подані основні напрями розвитку екологічної біотехнології, що становлять безпосередньо предмет її вивчення.

Коло завдань, що вирішуються екобіотехнологією, надзвичайно широке – від розроблення та вдосконалення методології комплексного хіміко-біологічного дослідження екосистем поблизу джерел техногенних дій до розроблення технологій і рекомендацій із рекультивації ґрунту, біологічного очищення води й повітря та біосинтезу препаратів, що компенсують шкідливий вплив зміни довкілля на людей і тварин. У рамках цього наукового напрямку розробляють технології рекультивації ґрунту, біологічного очищення

води й повітря та біосинтезу препаратів, що компенсують шкідливий вплив зміненого довкілля на людей і тварин.



Рисунок 1.1 – Класифікація напрямів розвитку екологічної біотехнології

Сучасні наукові дослідження націлені на створення безвідхідних технологій, одержання легкоруйнівних полімерів, зокрема біогенного походження, а також на пошук нових активних мікроорганізмів – руйнівників полімерів (поліетилену, поліпропілену, поліхлорвінілу).

Зусилля біотехнології спрямовані на боротьбу з пестицидними забрудненнями – наслідком надмірного й нераціонального застосування отрутохімікатів. Проводяться розроблення технологій із утилізації шкідливих викидів (хімікалії, нафта), що забруднюють воду та ґрунт, і сільськогосподарських відходів типу молочної сироватки для одержання харчових та кормових білкових продуктів, зокрема спеціальних препаратів, збагачених, наприклад, селеном дріжджів.

Підвищення цін на традиційні джерела енергії (природний газ, нафта, вугілля) і загроза їх вичерпання спонукали вчених звернутися до альтернативних шляхів одержання енергії. Роль біотехнології у створенні економічних поновлюваних енергетичних джерел (спиртів, біогенних вуглеводнів, водню) надзвичайно велика. Ці екологічно чисті види палива можна одержувати шляхом біоконверсії відходів промислового і сільськогосподарського виробництва. Перспективне продовження досліджень з удосконалення та впровадження процесів виробництва метану, етанолу, створення на основі мікроорганізмів (і ферментів) елементів, що ефективно виробляють електрику, а також з організації штучного фотосинтезу, зокрема біофотолізу води, з якого можна одержувати багаті на енергію водень та кисень.

Розвиток сільськогосподарської біотехнології на сучасному етапі спрямований на вирішення таких глобальних проблем, як підвищення родючості ґрунтів, врожайності та якості сільськогосподарської продукції; рекультивация сільськогосподарських угідь; поліпшення екологічної обстановки, що сприяє відновленню біоценозу ґрунтів; підвищення якості кормів та ін.

Екобіотехнологія також спрямована на створення раціональних і нешкідливих для людини й середовища процесів конверсії продуктів сільського господарства у більш цінні товарні форми. Для підвищення родючості ґрунту необхідно застосовувати органічні добрива, компости і знешкоджені шляхом метанового бродіння рідкі відходи тваринницьких ферм.

Таким чином, **екологічні біотехнології поділяють на два напрями**, що відповідають цілям застосування біотехнологічних процесів:

1) біотехнологічні методи, які використовують для захисту середовища від промислових і побутових відходів, деградації різних токсичних сполук, що вже потрапили в середовище, і т. п.;

2) упровадження біотехнологічних методів під час реалізації маловідхідних (безвідхідних) промислових процесів для досягнення повнішої утилізації сировини, зокрема вторинних сировинних ресурсів (рециклінг), інтенсифікація вирощування і використання поновлюваних природних ресурсів і т. п. До того ж поряд із виробництвом нових продуктів біотехнологічними методами можна одержувати також продукти, традиційні способи одержання яких менш екологічні.

Розроблення біотехнологічних виробництв на принципах екологічної безпеки на сьогодні стає все більш актуальним.

Другий напрям екологічної біотехнології ґрунтується не лише на показниках екологічної ефективності цієї технології, а й закладає ефективні економічні важелі впливу на ринку впровадження «зелених технологій», що дозволяє розширити сферу їх застосування і зробити

цей процес економічно вигідним. Важливим напрямом екобіотехнології є також утилізація відходів біотехнологічних виробництв.

Проблема взаємовідношень між біотехнологією та екологією – це можливість негативного впливу на біосферу біотехнологічних процесів і досліджень у сфері біотехнології. Необхідно враховувати можливість негативної дії побічних продуктів біоконверсії або біосинтезу за недостатнього контролю процесу, вихід із-під контролю біотехнологічних об'єктів, одержаних методами новітньої біотехнології, або біологічне забруднення суміжних середовищ із утворенням мутагенних агентів і т. п.

Розроблення та реалізація біотехнологічних виробництв, як і інших видів технологічних процесів, також призводить до появи виробничих відходів. Тому необхідно не лише знижувати клас небезпеки тієї чи іншої забруднювальної речовини, знезаражувати відходи в процесі біоконверсії, а й шукати шляхи використання побічних продуктів перероблення (рис. 1.2).

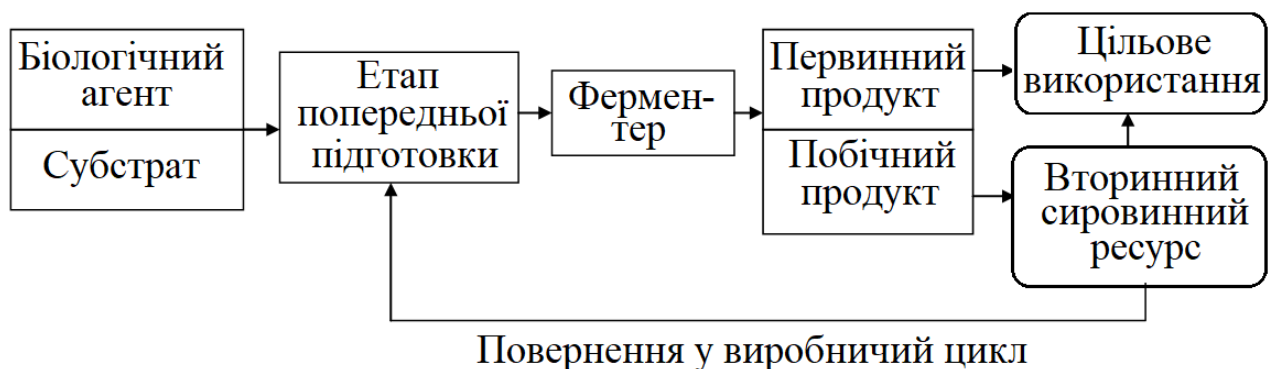


Рисунок 1.2 – Блок-схема «Принципи маловідхідності (безвідхідності) в розробленні екобіотехнологічних виробництв»

Таким чином, біотехнологія та екологія можуть взаємодіяти як через продукцію, так і через технологію.

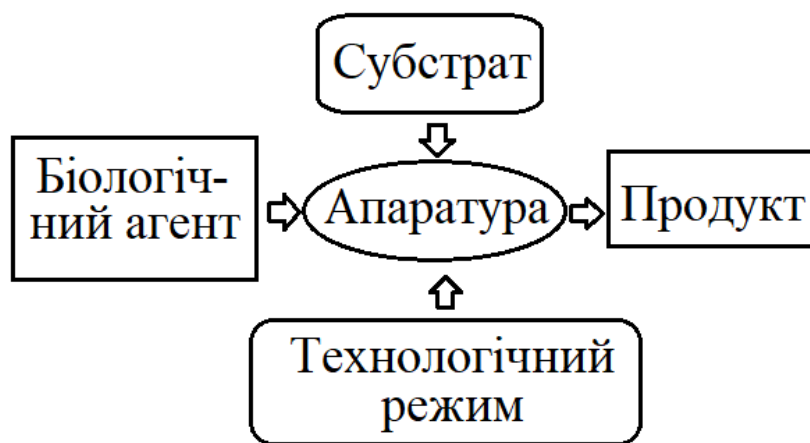
Основною метою впровадження екобіотехнології є підвищення рівня екологізації народного господарства, що приводить до виникнення більш гармонічних відношень між суспільством і природою.

1.2. Основні елементи біотехнологічних процесів

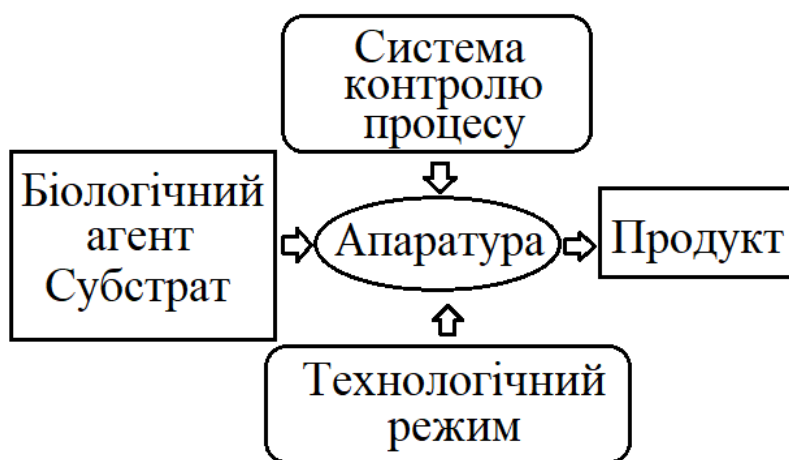
Основними елементами, що складають біотехнологічні процеси, є: біологічний агент, субстрат, апаратура, технологічний режим і продукт. У біотехнологічних процесах можливе використання різних біологічних агентів із різноманітним рівнем організації, – від клітинної до молекулярної.

Біологічний об'єкт – це основна структурна одиниця будь-якого біотехнологічного процесу.

На рисунку 1.3 *а, б* наведені схеми варіантів взаємодії основних компонентів біотехнологічного процесу. Варіант *а* – класичний варіант структурної організації (за Н. С. Єгоровим). У варіанті *б* відображена система «Біологічний агент – субстрат», що відповідає принципам маловідхідності, ефективному ресурсовикористанню. Наприклад, ця схема може описувати біотехнологічний процес, за якого органічні відходи є як субстратом, так і джерелом первинного природного мікробного угруповання без введення спеціальних груп мікроорганізмів. Цей варіант також передбачає введення нового елемента – системи контролю процесу біоконверсії, що на сьогодні є принципово важливим під час проектування та організації біотехнологічних систем із саморегуляцією й управління ними.



а



б

Рисунок 1.3 – Компоненти біотехнологічного процесу

Основне завдання у створенні будь-якого біотехнологічного процесу – розроблення та оптимізація науково обґрунтованої технології й апаратури для нього. До того ж багато зі створених людиною низькомолекулярних сполук (отрутохімікати, детергенти) і високомолекулярних полімерів виявилися стійкими і не повністю розкладаються природними мікробними угрупованнями, тобто потрібне розроблення вдосконалених технологій.

РОЗДІЛ 2

БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ ЕКОЛОГІЧНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Біологічний агент є активним початком у біотехнологічних процесах та одним із найбільш важливих її елементів. Номенклатура біологічних агентів постійно розширюється. До основних можна віднести мікроорганізми, мікробні асоціації, ферменти, гриби, рослини. До цього часу найважливіше місце займає традиційний об'єкт – мікробна клітина.

Необхідно зазначити, що екологічні біотехнології є маловідхідними технологіями з екологічно безпечною технічною реалізацією процесу. Вони спрямовані на очищення довкілля від різного роду забруднювальних речовин і виробництва екологічно чистої продукції з можливістю рециклінгу вторинних ресурсних потоків. Тому вибір біологічного агента тут має концептуальні основи, пов'язані з необхідністю глибоких знань у сфері фізіології та біохімічних процесів зростання і метаболізму біологічних об'єктів та обов'язковості їх санітарно-гігієнічного оцінювання.

2.1. Мікроорганізми

2.1.1. Використання різних фізіологічних груп мікроорганізмів

Мікробні клітини з різними хіміко-технологічними властивостями можуть бути виділені з природних джерел і далі за допомогою традиційних (селекція, відбір) і новітніх методів (клітинна і генетична інженерія) істотно модифіковані та поліпшені.

При виборі біологічного агента і поставленні його на виробництво передусім потрібно дотримуватися принципу технологічності штамів.

Це означає, що мікробна клітина, популяція або угруповання особин повинні зберігати свої основні фізіолого-біохімічні властивості в процесі тривалого ведення ферментації. Промислові продуценти також повинні бути стійкими до мутаційних дій, фагів, зараження сторонньою мікрофлорою (контамінації); характеризуватися нешкідливістю для людей і довкілля, не мати під час вирощування побічних токсичних продуктів обміну й відходів, мати високі виходи продукту та прийнятні техніко-економічні показники.

Нині багато промислових мікробних технологій базуються на використанні гетеротрофних організмів, а в майбутньому вирішальне місце серед продуцентів займуть автотрофні мікроорганізми, що не потребують росту в дефіцитних органічних середовищах, а також **екстремофіли** – організми, що розвиваються в екстремальних умовах середовища (термофільні, алкало- й ацидофільні).

Останніми роками розширюється застосування змішаних мікробних культур та їх природних асоціацій.

У такого роду змішаних культурах між мікроорганізмами встановлюються певні взаємовідносини, що ґрунтуються на екологічних принципах взаємодії в змішаних популяціях. Можливі різні *типи такої взаємодії*:

- нейтралізм – практична відсутність взаємодії між видами;
- мутуалізм – обидва штами швидше ростуть у змішаній культурі, ніж у відповідних чистих культурах.

Мутуалізм є взаємним обміном ростовими чинниками. Різко виражений мутуалізм, якщо один мікроорганізм абсолютно не може існувати без іншого, називають **симбіозом**.

Якщо один вид продукує речовини, прискорюючи зростання іншого виду, то це свідчить про те, що у взаємовідношеннях між цими видами має місце **коменсалізм**. Протилежний до коменсалізму **аменсалізм**, якщо один вид продукує речовину, що пригнічує зростання іншого виду.

Стосовно мікробів сформувалися чотири підходи, використовувані в їх культивуванні, зокрема в селекційній роботі:

1. Відбір природних штамів, що мають цінні ознаки, виявляються в конкретних умовах їх проживання. Цей підхід спирається на природний хід подій у мікроорганізмів у змінених умовах (природний відбір).

2. Штучний відбір клонів мікроорганізмів із корисними для людини ознаками, що виникли на основі природної мінливості батьківських форм.

3. Ступінчаста селекція – ефективний метод штучного відбору форм із застосуванням мутагенів для збільшення мінливості тест-культур, а серед останніх відбирають найбільш перспективні.

4. Гібридизація як метод виведення корисних форм мікроорганізмів. Тут є аналогія з методом схрещування у вищих еукаріотів.

2.1.2. Біофізичні основи росту мікробної культури

Під урожаєм клітин (X) розуміють різницю між максимальною і початковою біомасою:

$$X = X_{max} - X_0, \quad (2.1)$$

Цю величину виражають у вагових одиницях, частіше – у грамах. Особливо важливе відношення урожаю клітин до кількості спожитого субстрату (X/S). Якщо обидві ці величини виражають у вагових одиницях, то відношення X/S , що називають економічним коефіцієнтом, позначають через Y :

$$Y = dX/dS, \quad (2.2)$$

де dX – збільшення біомаси, що відповідає споживанню субстрату кількістю dS . Більш строго економічний коефіцієнт визначається межею, до якої наближається це співвідношення за dS , що прямує до нуля. Важливість економічного коефіцієнта полягає в тому, що він виражає кількісні потреби організму в їжі. Вперше економічний коефіцієнт був використаний М. Роленом для вираження харчових потреб мікроскопічних міцеліальних грибів ($Y = -dX/dS$). Знак « $-$ » тут уводився, оскільки значення змінюються в різних напрямках. Нині прийнято використовувати величину Y , обернену до запропонованої М. Роленом.

Якщо ж урожай (у грамах) відносять до молів спожитого субстрату, то економічний коефіцієнт, який називають у цьому разі

молярним економічним коефіцієнтом, позначають через Y_m . Молярний економічний коефіцієнт Y_m дозволяє пов'язати урожай клітин з одержаною з якого-небудь джерела енергії (тобто якого-небудь субстрату) кількістю АТФ (макроергічні еквіваленти). $Y_{AT\Phi}$ – енергетичний коефіцієнт, що виражається в грамах клітинної маси на 1 моль АТФ. Цей коефіцієнт можна обчислити, якщо відомий шлях розщеплювання цього субстрату і вихід АТФ у результаті цього розщеплювання. Швидкість споживання субстрату культурою на цей момент часу виражається співвідношенням

$$dS/dT = qX, \quad (2.3)$$

де X – біомаса, а коефіцієнт q відомий як метаболічний коефіцієнт, або питома швидкість метаболізму.

Метаболічний коефіцієнт аналогічний ферментативній активності. Метаболічний коефіцієнт можна виразити також через економічний коефіцієнт (Y) і питому швидкість росту (μ) та подати ще в такому вигляді:

$$q = \mu/Y. \quad (2.4)$$

Параметр μ , що означає швидкість росту одиниці біомаси ($1/X$) (dX/dt), називають питомою швидкістю росту і вимірюють в одиницях, обернених у часі ($1/t$). Цей параметр аналогічний складним відсоткам. Так, наприклад, питома швидкість росту 0,1 год еквівалентна швидкості 10 % за 1 годину.

Цей параметр можна обчислити зважаючи на те, що

$$dX = \mu \cdot Xdt, \quad (2.5)$$

де dX/dt – швидкість росту; X – біомаса; μ – коефіцієнт пропорційності («питома швидкість росту»),

звідси

$$dX/dt = \mu X \text{ або } \mu = dX/dt \cdot 1/X. \quad (2.6)$$

Якщо μ – стала, то інтеграція рівняння матиме такий вигляд:

$$\ln X = \ln X_0 + \mu t, \quad (2.7)$$

де X_0 – біомаса в початковий момент часу $t = 0$.

Зростання популяції клітин, що підлягає цьому закону, називають експоненціальним, або логарифмічним, зростанням. Графік залежності $\ln X$ від часу матиме вигляд прямої лінії з нахилом μ . Питома швидкість зростання є одним з основних параметрів, що характеризують фізіологічний стан продуцента; ряд інших параметрів може бути вираженим через цей показник.

Для того щоб розрахувати час генерації клітин, можна використати рівняння, враховуючи геометричну прогресію зростання:

$$N = N_0 \cdot 2^n, \text{ звідси } \lg N = \lg N_0 + n \lg 2, \quad (2.8)$$

де N – кількість клітин.

Звідси кількість клітинних поділів (n) становитиме

$$n = (\lg N - \lg N_0) / \lg 2. \quad (2.9)$$

Якщо зображувати цей процес на графіку, то одержимо криву експоненціального зростання, яка в напівлогарифмічних координатах lgN/t перетворюється на пряму. На практиці експоненціальне зростання може бути апроксимоване двома прямими за трьома точками (рис. 2.1) і сприйматися як порогова подія з раптовим переходом у стан насичення після досягнення максимальної щільності.

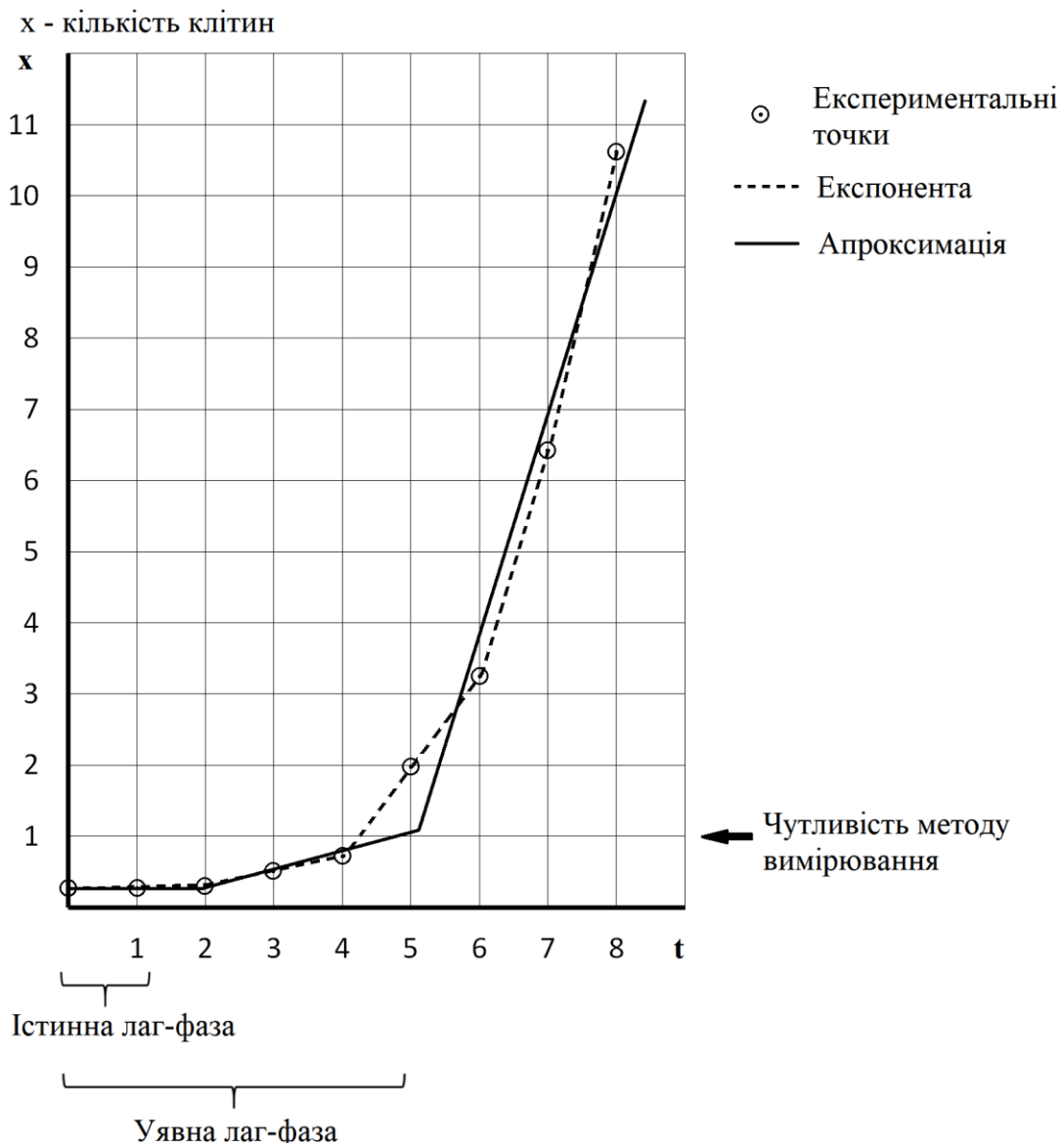


Рисунок 2.1 – Апроксимація експоненціального зростання прямими
(Г. О. Заварзін, 2003)

Початкова фаза експоненти зазвичай сприймається як лаг-фаза, частково, у зв'язку з порогом розпізнавання початку зростання за каламутністю за $lg N_t = 5$ або 6. Від цієї уявної лаг-фази необхідно відрізняти істинну лаг-фазу, якщо розмноження немає і відбувається приготування клітини до початку розмноження процесами ініціації у середині клітини. Лог-фаза визначається відрізком часу, що відсікається на напівлогарифмічному графіку прямої кількості живих клітин. У міру наближення до граничної кількості зростання сповільнюється. Зазвичай максимальна кількість визначається використанням поживного субстрату, але можуть бути й інші причини, наприклад отруєння продуктами обміну.

Є й більш тонші механізми регуляції густоти популяції з використанням сигнальних молекул, підвищення концентрації яких у середовищі сприймається генетичним апаратом бактерій. Після досягнення максимально можливої в цих умовах густоти бактерії переходять у стаціонарну фазу, що характеризується іншим фізіологічним станом, який зазвичай позначають як набіотичний.

Виділяють дві особливості емпіричної залежності росту культур мікроорганізмів:

1. Швидкість зміни кількості мікроорганізмів у режимі його росту (в експоненціальній фазі) лінійно пов'язана з концентрацією клітин у системі:

$$\frac{dN}{dt} = \mu N, \quad (2.10)$$

де N – кількість клітин; μ – питома швидкість зростання. Уявляється, що μ не залежить від часу в досліджуваному інтервалі.

Власне, це рівняння в інтегральній формі і є рівнянням експоненціального зростання. Його інтеграція за початкових умов $t = 0, N = N_0$ приводить до функції

$$N = N_0 \cdot e^{\mu t}. \quad (2.11)$$

2. Було визначено, що здебільшого значення питомої швидкості зростання залежить від концентрації лімітуючого субстрату, і ця залежність може бути подана у формі

$$\mu(S) = \frac{\mu_m S}{K_s + S}, \quad (2.12)$$

де μ_m – гранична максимальна питома швидкість росту; K_s – параметр, що одержав назву константи спорідненості субстрату до мікроорганізму.

Між питомою швидкістю зростання μ і концентрацією субстрату S існує гіперболічна залежність (рис. 2.2), що була установлена Моно, і тому рівняння (2.12) одержало назву рівняння Моно. Ця залежність виразно виявляється під час періодичного процесу культивування.

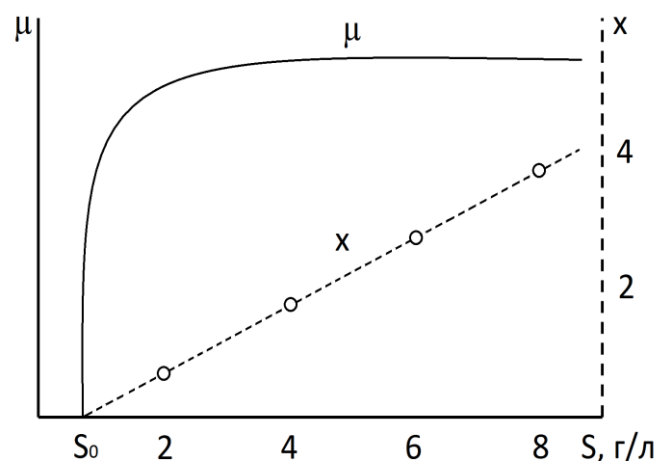


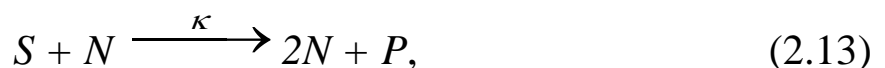
Рисунок 2.2 – Залежність швидкості зростання й урожаю x від початкової концентрації субстрату (за Г. Шлегелем, 1987):

S_0 – мінімальний поріг концентрації субстрату

Принциповою особливістю кінетики мікробних популяцій є залежність швидкості росту культури від концентрації одного або декількох найбільш важливих компонентів середовища, що забезпечують біосинтетичну основу метаболізму. Ці компоненти одержали назву *лімітувальних субстратів* і певною мірою регулюють швидкість росту популяції.

Існують *два підходи до опису залежності швидкості росту культур мікроорганізмів від концентрації лімітувального субстрату* – макроскопічний і мікроскопічний.

При макроскопічному підході ріст культури мікроорганізмів поданий як автокаталітичний процес. Він досить адекватно описує фундаментальні кінетичні особливості мікробного зростання – експоненціальний характер процесу і залежність питомої швидкості росту від концентрації субстрату. Рівняння, що пов'язує швидкість росту культур мікроорганізмів із концентрацією субстрату (рівняння Моно), має емпіричний характер. Уявімо просту кінетичну схему автокаталітичної реакції з розкладанням каталітичних центрів:



де N – кількість центрів, що зазнали подвоєння при взаємодії із субстратом; P – продукт.

Кількість центрів, з якими взаємодіє субстрат, і кількість клітин мікроорганізмів пов'язані між собою прямо пропорційним зв'язком, оскільки передбачається, що клітини в середньому містять однакову кількість центрів, на яких здійснюється трансформація субстрату. У рамках кінетичного наближення частоту актів поділу клітин можна позначити константою k . Субстрат S унаслідок взаємодії з

компонентами клітини трансформується з утворенням продукту P .

Динаміку зміни в системі концентрації компонентів описуватимуть рівняння

$$\frac{dN}{dt} = kSN, \quad (2.14)$$

$$\frac{dP}{dt} = \frac{kSN}{Y_p}, \quad (2.15)$$

де Y_p – коефіцієнт пропорційності, що зв'язує кількість утвореної біомаси і продукту ферментативного перетворення:

$$N - N_0 = Y_p(P - P_0). \quad (2.16)$$

Якщо концентрація речовини S у системі досить велика і за час процесу змінюється неістотно, то можна її вважати сталою величиною ($S = S_0$). У цьому разі рівняння (2.14) можна проінтегрувати стосовно кількості клітин N . Якщо використати початкову умову ($t = 0, N = N_0$), інтеграція рівняння (2.14) зводиться до експоненціальної функції

$$N(t) = N_0 e^{kS_0 t}. \quad (2.17)$$

Підставлення рівняння (2.17) в диференціальне рівняння (2.14) і подальше його інтегрування (за припущення, що $P_0 = 0$) приводять до такої залежності від часу концентрації продукту:

$$P(t) = \int_0^t \frac{kS_0 N_0}{Y_p} e^{kS_0 t} dt = \frac{N_0}{Y_p} (e^{kS_0 t} - 1). \quad (2.18)$$

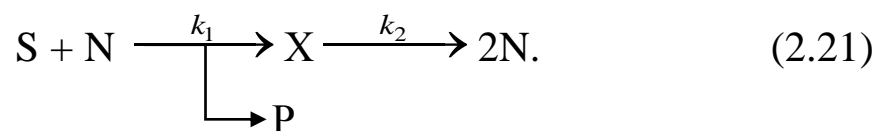
За часу реакції, близького до нуля ($t \ll \frac{1}{kS_0}$), концентрація продукту близька до нуля, за великого часу реакції повинне спостерігатися експоненціальне зростання концентрації продукту:

$$P(t) = \frac{N_0}{Y_p} e^{kS_0 t}. \quad (2.19)$$

Рівняння (2.17), (2.19) і відповідно кінетична схема (2.13) описують важливу особливість кінетики зростання мікробної популяції – кількість клітин у системі експоненціально збільшується в часі. Питома швидкість росту $\mu(S)$, що є показником експоненти в рівняннях (2.17) і (2.19), є лінійною функцією концентрації субстрату:

$$\mu(S) = kS_0. \quad (2.20)$$

Рівняння (2.20) на відміну від рівняння Моно приводить до лінійного необмеженого збільшення питомої швидкості зростання мікроорганізмів зі збільшенням концентрації субстрату. Це суперечить експериментальним даним і вимагає додаткового ускладнення простої кінетичної схеми росту популяції при деталізації її з урахуванням двох необоротних стадій процесу:



Субстрат, взаємодіючи з каталітичними центрами всередині клітини (кількість центрів N пропорційна кількості клітин у популяції), приводить до утворення метаболітів, що забезпечують можливість поділу клітини і подвоєння центрів, з якими взаємодіє

субстрат. Тоді ми одержуємо гіперболічну функцію концентрації субстрату, що відповідає рівнянню Моно:

$$\mu(S) = \frac{k_2 \cdot S_0}{k_2 / (k_1 + S_0)}. \quad (2.22)$$

Значення μm має сенс константи швидкості процесу подвоєння центрів k_2 , з якими взаємодіє субстрат. K_s у рівнянні Моно є відношенням констант двох стадій процесу k_2/k_1 .

Методологія побудови кінетичних рівнянь мікробного росту може бути побудована й за іншим підходом – *мікроскопічним*, тобто на розрахунку з хіміко-кінетичних подань часу подвоєння клітинного матеріалу, виходячи з припущення, що час визначається яким-небудь лімітувальним біохімічним процесом. За умови, що цей час вдається розрахувати, ріст популяції в експотенціальній фазі описуватиметься рівнянням

$$M = M_0 \cdot 2^{t/\tau}, \quad (2.23)$$

де τ – характеристичний час біохімічного циклу, час подвоєння; M_0 – початкова концентрація клітин.

Це досить загальний підхід, що дозволяє проаналізувати кінетику росту клітинної популяції, якщо є можливість кількісно визначити τ . При цьому припускають, що дія ферменту (чи ферментної системи), що трансформує лімітувальний субстрат, і процес реплікації ДНК є найповільнішими стадіями. Це характерно для активно зростаючих мікроорганізмів.

2.1.3. Використання мікроорганізмів у процесах екологічної біотехнології

Біопестициди

На сьогодні бактерії, гриби, віруси дедалі ширше використовують як промислові біопестициди. Технологія виробництва цих препаратів дуже різна, як і різноманітна природа й фізіологічні особливості мікроорганізмів-продуцентів. Проте є низка універсальних вимог, що ставлять до біопестицидів, основні з яких: селективність і висока ефективність дії, безпека для людини й корисних представників флори та фауни, тривале збереження й зручність застосування, добра змочуваність і липкість. Одноклітинні гриби добре зберігаються у вигляді спор і продукують різноманітні біологічно активні речовини, що посилюють їх патогенність. Проте грибні препарати не застосовують поки що досить широко. Це пов'язане, по-перше, з певними технологічними труднощами, що виникають при їх культивуванні, і по-друге, обумовлені жорсткими вимогами до чинників довкілля (висока активність грибних препаратів виявляється лише в умовах високої й стабільної вологості).

Виготовлення азотобактерину

Азотобактерин – бактеріальне добриво, що містить вільно існуючий ґрунтовий мікроорганізм *Azotobacter chroococcum*, здатний фіксувати до 20 мг атмосферного азоту на 1 г використаного цукру. Внесені як добриво в ґрунт бактерії також виділяють біологічно активні речовини (нікотинову і пантотенову кислоти, піридоксин, біотин, гетероауксин, гіберелін та ін.). Ці речовини стимулюють ріст рослин. Крім того, продукуювані *Azotobacter* фунгіцидні речовини з

групи анісоміцину пригнічують розвиток деяких небажаних мікроскопічних грибів у ризосфері рослини.

Установлено, що при фіксації азоту процес його відновлення проходить на одному й тому самому ферментному комплексі, що синтезується азотобактером, і лише кінцевий продукт (аміак) відділяється від ферменту. Нітрогеназна азотофіксувальна система є мультиферментним комплексом, що містить не пов'язане з геном залізо, молібден і SH-групи.

Використовувати азотобактерин рекомендують лише на ґрунтах, що містять фосфор і мікроелементи. Азотобактерин застосовують для бактеризації насіння, розсади, компостів.

Забезпечення рослин фосфатами

Фосфатні іони в ґрунті, як відомо, не дуже рухливі, тому навколо кореневої зони рослин часто виникає дефіцит фосфору. Везикулярно-арбускулярна мікориза (ВА) відіграє істотну роль у родючості ґрунту, оскільки сприяє поглинанню рослинами фосфатів із ґрунту. Ендо- та екзомікоризи є особливими структурами, що формуються усередині або навколо дрібних корінців рослин унаслідок зараження ґрунтовими непатогенними грибами.

Симбіотичні відношення, що виникають між грибами і рослинами, вигідні рослині-хазяїну. Мікориза ВА, утворювана грибом-фікоміцетом із родини *Endogonaceae*, трапляється досить часто у більшості ґрунтів практично усіх кліматичних зон. Ця мікориза властива більшій частині покритонасінних, багатьом голонасінним, а також деяким папоротям і печіночникам. Мікориза ВА виявлена у більшості найважливіших видів культурних рослин.

Гіфи мікоризи, що ростуть із міцелію і поширюються далеко за межі кореневої системи, переносять фосфат-іони із зон їх наявності в клітини хазяїна. Найбільший ефект ВА надає рослинам із слабою кореневою системою. Для розмноження ендоефітів у ґрунті потрібна їх інокуляція. Проте розмноження грибів відбувається лише за наявності рослини-хазяїна. Єдиний ефективний спосіб одержання великих кількостей ендоефіту – вирощування на відповідній лінії рослин. Інокулятом при цьому є суміш коренів міцелію і спор. Декілька грамів неочищеного інокуляту, одержаного з горщечкової культури рослини-хазяїна, додають у довкілля або розміщують поблизу від молодих коренів так, щоб до пересаджування рослини в ґрунті встигла утворитися досить потужна мікориза. Метод ефективний під час саджання лісів, цитрусових, але його не застосовують для інокуляції в польових умовах, оскільки препарату необхідно багато (2–3 т неочищеного інокуляту на 1 га). Одержувати такі кількості інокуляту ВА не є можливим.

Технологія одержання препарату фосфоробактерину багато в чому подібна до технології одержання сухого нітрагіну і азотобактерину. Вирощування *Bac. megaterium* проводять у контрольованій глибинній культурі до стадії утворення спор. Процес проводять у строго стерильних умовах, оскільки багато виробничих штамів чутливі до дії бактеріофагів.

2.2. Мікробні асоціації та консорціуми

Асоціація у мікроорганізмів, угруповання мікроорганізмів, постійно спостерігається і (або) розвивається взаємообумовлено. **Основою формування асоціації є:** послідовність розкладання

субстрату різними мікроорганізмами (метабіотична асоціація); обмін між ними чинниками росту, наприклад, вітамінами (протокооперація); видалення токсичних продуктів обміну (аменсалізм); обмін енергетичним субстратом (синтрофні асоціації). Асоціації мікроорганізмів можуть переходити у морфологічно оформлені угруповання бактерій, що спільно розвиваються, наприклад, сульфаторедукуючих і зелених фототрофних бактерій. У широкому сенсі асоціації у мікроорганізмів – мікробне населення, яке постійно спостерігається разом у певному субстраті, фізіологічний взаємозв'язок компонентів якого не завжди буває зрозумілим, наприклад, асоціації мікроорганізмів лугового, підзолистого та інших ґрунтів.

Синтрофізм – особливий випадок симбіотичної кооперації між метаболічно різними типами бактерій, які залежать один від одного під час руйнування субстратів.

Термін «консорціум» використовують для описування різних кооперацій мікроорганізмів. У примітці до правила 31 у «Міжнародному кодексі номенклатури бактерій» (1978) зазначено: «**Консорціум** – це сукупність або асоціація двох чи більше організмів. Таким чином, це поняття вміщує й такі форми угруповань мікроорганізмів, як асоціація і змішана культура».

Порівняно з монокультурами мікробні асоціації здатні споживати складні, неоднорідні за складом субстрати, мінералізувати складні органічні сполуки, маючи підвищену здатність до біотрансформації, підвищену стійкість до дії несприятливих чинників середовища і токсичних речовин, а також підвищену продуктивність і

можливість обміну генетичною інформацією між окремими видами угруповання.

Основні сфери застосування змішаних культур – виробництво харчових продуктів, охорона довкілля, біодеградація і засвоєння складних субстратів.

Необхідно зазначити, що на сьогодні у сфері розвитку біотехнології охорони довкілля важливе місце займають саме асоціації мікроорганізмів-диструкторів органічних забруднень. Їх використовують як в аеробному, так і в анаеробному очищенні стічних вод, у переробленні побутових відходів та органічних опадів міських стоків, у процесі біоремедації забруднених ґрунтів і т. п. Тому дуже важливими є розуміння біохімічних механізмів роботи мікробних угруповань, аналіз напрямів використання їх в екологічній біотехнології.

Між видами, здатними до використання одного субстрату, виникають конкурентні відношення. Таких відношень немає між членами угруповання, що використовують різні субстрати. Конкуренція між ними може стосуватися другорядних чинників, але основний тип взаємодії в мікробному угрупованні – трофічний – не дає підстав для виникнення конкурентних відношень. Таким чином, конкуренція відбувається в межах однієї фізіологічної групи, позначеної боксом на графі трофічних відношень.

Успіх у конкурентній боротьбі припускає за замовчуванням найбільш досягну біомасу цього виду, зазвичай виражається через кількість особин N . Цей критерій достатній у певних межах, але можуть бути й інші не такі очевидні критерії, наприклад, виживаність

особин, а для великого проміжку часу – тривалість існування виду, його персистентність.

Очевидно, що кількість особин не може збільшуватися необмежено, а досягає певної межі, обумовленої місткістю середовища K . Якщо швидкість росту залежить від уже накопиченої кількості особин та описується логістичним рівнянням Ферхюльста (1838):

$$\frac{dN}{dt} = r \cdot N \cdot \left(1 - \frac{N}{K}\right), \quad (2.24)$$

де r – коефіцієнт експоненціального росту; dt – час накопичення мікроорганізмів у ґрунті.

Уявімо два організми А і В, що використовують один і той самий субстрат. Для них можна зображувати дві криві залежності μ від s . Нехай для А μ_m менше, ніж для В, але й K_s менше, ніж для В. Тоді існує такий діапазон малих концентрацій s , за яких А, що повільно росте, виграє від В, що швидко росте. Це співвідношення характеристик двох конкуруючих організмів, які одержали назву *«правила кривих, що схрещуються»*: за низької концентрації субстрату виграє організм із високою спорідненістю до субстрату і малою K_s , за високої концентрації – організм із високою μ_{max} . Відповідно їх позначають як **оліготрофи і копіотрофи**. Насправді в одній і тій самій посудині або місці проживання ростуть обидва організми, але один росте більше. Важливе значення має мінімальна концентрація субстрату, за якої транспортні системи організму вже неефективні. Ця величина часто визначає залишкову концентрацію

субстрату в природі після досягнення мікроорганізмами максимальної щільності. Наприклад, порогові концентрації H_2 в середовищі істотно різняться для різних груп анаеробних гідрогенотрофних організмів.

Найменша спорідненість до водню у гомоацетатних організмів – приблизно 1 000 ppm (partes pro million, 10^{-6} за об'ємом) у газовій фазі, за ними йдуть метаногени з порогом 5–100 ppm; у сульфатредукторів ця величина менша за 1 ppm, а в бактерій, які відновлюють залізо, ще нижча. Оскільки концентрація продукту реакції впливає на її термодинамічний вихід, то ріст анаеробів, що утворюють водень, залежить від того, який кінцевий рівень H_2 устанавлюється в середовищі. У конкуренції не менш важливе значення, ніж швидкість росту, має виживання, зокрема й за мінімальної концентрації субстрату: виграє не лише той організм, кількість якого більша на цей момент, а й той, у якого швидкість відмирання менша.

Проте, переходячи до природних умов, можна натрапити на цілу низку додаткових міркувань, що обмежують абсолютизацію правила схрещуваних кривих. По-перше, незважаючи на меншу швидкість росту в бінарній культурі, *A* все-таки росте і складе певну частину популяції. Видалення *A* з культури може статися лише за однакової ймовірності загибелі для *A* і *B*, наприклад за рахунок вимивання з проточної культури, але ймовірність загибелі визначається іншими чинниками, ніж швидкість росту. По-друге, *успішна колонізація субстрату залежить від початкової кількості клітин N_0 і за великого засівання, що відносно повільно росте, *A* може домінувати.*

Така можливість виникає за рахунок великої кількості стійких клітин, наприклад спор, у середовищі та залежить від швидкості проходження ними лаг-фази, тобто пробудження до активного росту. Нарешті, по-третє, μ_m характеризує певні умови середовища і широко варіює залежно від температури, рН, солоності. Унаслідок використання одного й того самого субстрату в різноманітних умовах надає перевагу різним організмам, і кількість потенційних можливостей для видової різноманітності у виконанні однієї й тієї самої функції в угруповання багаторазово зростає.

Під час розгляду конкуренції, що ґрунтується на кінетиці зростання, мають на увазі, що йде мова про субстрат як донора електрона. Але, крім донора, організм потребує й акцептора. Розчинність кисню у воді дуже невелика та становить менше ніж 10 мг/л. При обмеженні киснем виникає конкуренція за нього між аеробними організмами та мікроаеробними (мікроаерофілами), що розвиваються за концентрації кисню приблизно 1 мг/л. Звідси конкуренція між аеробними організмами, що навіть використовують різні субстрати, може бути дуже жорсткою.

Обмеження росту «лімітувальними чинниками» може належати не лише до енергетичного субстрату катаболізму, а й до субстратів анаболізму, що об'єднуються поняттям необхідних *чинників росту*. До них можуть відносити амінокислоти, вітаміни, мінеральні компоненти. Для всіх цих лімітувальних чинників у хемостатній культурі (за однакової ймовірності загибелі) було виведене правило, що кількість видів повинна дорівнювати кількості лімітувальних чинників (М. С. Печуркін, 1978).

Таким чином, виходячи з великої швидкості розмноження мікроорганізмів як організмів із коротким життєвим циклом, ми можемо розраховувати, що в природі більшість організмів перебувають у стані голоду або лімітації субстратом і відповідно до швидкості їх розмноження мінімальні. Висока швидкість розмноження бактерій, спостережувана в лабораторних культурах, є міфом, небезпечним унаслідок своєї стійкості; мова може йти лише про потенційно високу швидкість розмноження. Фізіологічний стан організмів у природі визначає їх здатність до розмноження. На підставі молекулярних методів ідентифікації вигляду мікроорганізмів та його кількості в природі виявлено, що значну частину популяції відносять до так званих некультивованих форм, тобто таких, які не проростають при висіванні на лабораторні середовища.

Отже, для бактерій основним вираженням конкуренції є кінетика росту та відмирання. Швидкість росту залежить від концентрації субстрату, й у міру його виснаження повинна відбуватися зміна домінуючих видів.

У трофічному ланцюзі, де продукт обміну одного організму A є субстратом для організму B із іншими можливостями обміну, виникає трофічний ланцюг

$$s \rightarrow A \rightarrow a \rightarrow B \rightarrow b \rightarrow C \rightarrow p, \quad (2.25)$$

де s – субстрат на вході в харчовий ланцюг; p – продукт на виході.

При цьому кількості організмів прагнуть до максимуму, а концентрації проміжних продуктів (a , b) – до мінімуму. Внаслідок цього спочатку відбувається адаптація організму до концентрації

субстрату, що зменшується, шляхом включення все більш ефективних систем уловлювання субстрату і підвищення спорідненості до нього за рахунок зміни транспортних систем, а якщо концентрація субстрату досягає мінімального концентраційного порога для цього організму, можлива зміна його іншим видом із великою спорідненістю. Класичним прикладом є зміна в описаному вище метаногенному угрупованні ацетокластичних організмів: на початку за високої концентрації ацетату переважає велика метаносарцина з $K_s = 5$ мкМ і відносно високою швидкістю росту, а при зниженні концентрації її змінює ниткоподібний метанотрикс із $K_s = 0,5-1$ мкМ і в п'ять разів меншою швидкістю росту. Внаслідок цього за великого часу існування угруповання в ньому повинні переважати види організмів із високою спорідненістю до субстрату, здатні розвиватися за дуже низької його концентрації, що позначається як порогова. Водночас за низької концентрації субстрату найбільша частка доступної енергії витрачається на енергію підтримки, яка не використовується для зростання кількості організмів.

2.2.1. Окисно-відновні процеси в мікробіологічній системі

Мікроорганізми одержують енергію для своєї життєдіяльності внаслідок окисно-відновних реакцій, що здійснюють перенесення електрона від донора до акцептора. Кожен окремий організм являє собою електрохімічний елемент, здійснюючи дві напівреакції, розділені мембраною. Звідси, до речі, висновок, що життя може

існувати лише в дискретній формі й жодної «живої речовини» бути не може в принципі.

Для неорганічних сполук чітко додержується термодинамічна послідовність окисно-відновних потенціалів як акцепторів, яким надають перевагу; найменш вигідні термодинамічні акцептори використовують в останню чергу. Тому *розвиток вторинних анаеробів можливий лише в полі термодинамічної стійкості відновленого продукту реакції в координатах Eh-pU.*

Основними джерелами енергії для живих істот є сонячна радіація, вуглеводи; лише для прокариот – H_2 , CO_2 , NH_3 , N_2 і його неорганічні похідні (H_2S , $Na_2S_2O_3$, SO_4^{2-}), а також Fe^{2+} . До первинних генераторів енергії, в яких відбувається перетворення світлової та хімічної енергії на доступну клітинам форму, відносять бактеріородопсин, редокс-ланцюг фототрофів і дихальний ланцюг. У хемотрофних, або хемосинтезувальних, видів набір окисно-відновних систем ширший. Так, найважливішими донорами електрона для вторинних анаеробів є: водень і $HCOOH$, ацетат і етанол, леткі жирні кислоти (ЛЖК). Ці сполуки містяться на головних трофічних маршрутах. *Послідовність використання акцепторів електронів передбачає:* а) відновлення $Fe(III)$; б) відновлення нітратів, денітрифікування, анаеробне утворення амонію; в) відновлення сполук сірки у сірководень, або сульфідогенез; г) відновлення вуглекислоти в метан, або метаногенез. Останній процес не потребує зовнішніх джерел окиснювача, оскільки вуглекислота утворюється під час бродіння. Кожен із цих процесів спостерігається в природі в певних умовах залежно від надходження акцептора. Їх послідовність

чітко є видимою в часі, наприклад при затопленні ґрунту, і в просторі, наприклад за профілем опадів мулу океану.

Розглянемо його на прикладі напівреакцій побудови балансового рівняння загальної реакції мікробного синтезу.

Загальна реакція

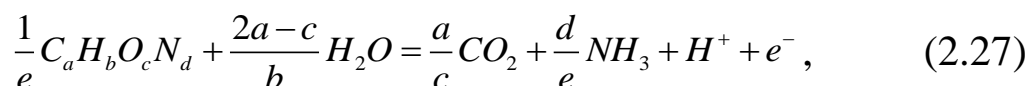
$$R = R_d + f_e R_a + f_s R_c, \quad (2.26)$$

де f_e – частка донорів електронів, що використовуються для вироблення енергії; f_s – частка донорів електронів, що використовуються для клітинного синтезу; при $f_e + f_s = 1$.

Напівреакції донора електрона (R_d):

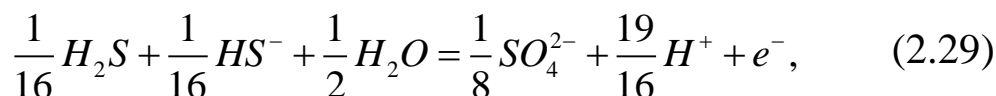
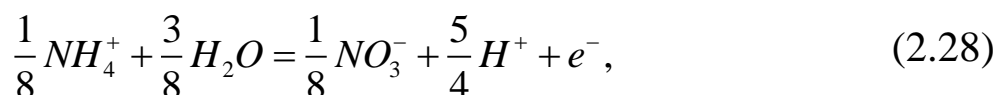
1. Донори електронів:

а) органічна рідина:



де $e = 4a + b - 2c - 3d$;

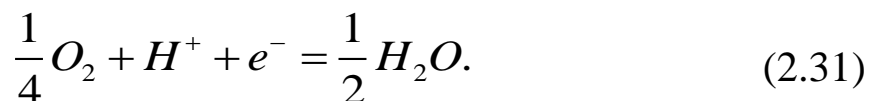
б) неорганічна рідина:



Напівреакції акцептора електрона (R_a):

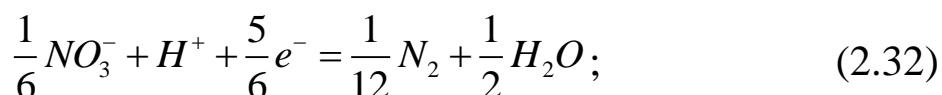
2. Акцептори електронів:

Аеробний процес:

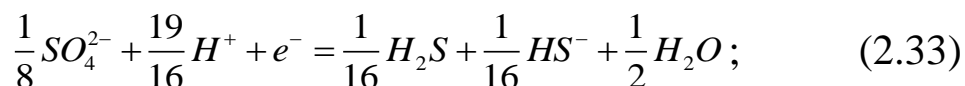


Анаеробний процес:

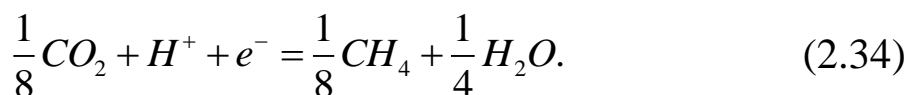
– денітрифікація:



– сульфатне дихання:

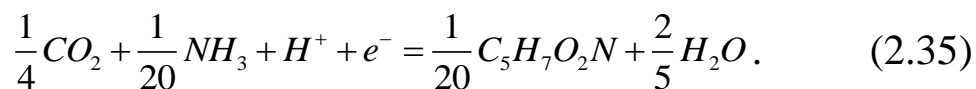


– карбонатне дихання:

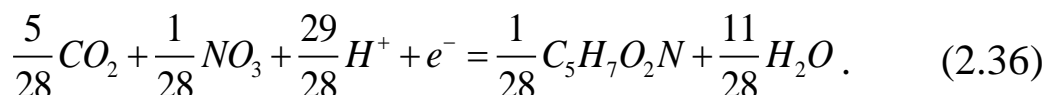


Розглянемо напівреакції синтезу мікробної клітини (R_c):

Джерело амонію N :



Джерело нітрату N :



2.2.2. Енергетика мікробіологічної системи

По суті, в енергетиці мікроорганізмів ми маємо справу з електрохімічною реакцією. Мікробіологам термодинамічні розрахунки в координатах ЕН-РН потрібні для з'ясування обміну літотрофних організмів.

Можливість використовувати енергію хімічної реакції для росту організмів визначається зміною вільної енергії, ΔG (тобто тією енергією, яка за сталого тиску й температури може бути перетворена на роботу).

Поняття фізичної хімії

Зміну вільної енергії в реакції



можна обчислити через константу рівноваги реакції як

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + 2,303R \cdot T \cdot \lg K = \Delta G^{\circ} + \log \frac{[C][D]}{[A][B]}, \quad (2.38)$$

де R – газова стала, що дорівнює 8,314 Дж/(моль · К); T – абсолютна температура в градусах Кельвіна; K – константа рівноваги реакції; $[A]$, $[B]$, $[C]$, $[D]$ – концентрації субстратів (А, В) і продуктів (С, D) реакції; ΔG° – стандартна зміна вільної енергії, розрахована для стандартних умов реакції: температури 25 °С, 298 К, тиску 1 атм та 1 М концентрації всіх реагуючих речовин,

$$\Delta G^{\circ} = 2,303R \cdot T \cdot \lg K, \quad (2.39)$$

і ця величина є постійною характеристикою реакції. Для позначення стандартної вільної енергії при рН = 7, що відповідає фізіологічним умовам, використовують символ ΔG° .

Найважливішим наслідком наведеного рівняння є залежність росту мікроорганізмів від видалення продуктів реакції, що досягається їх взаємодією з мікроорганізмами, які споживають ці продукти. Іншим варіантом є видалення продуктів у вигляді газів або утворення нерозчинних мінералів. Ці закономірності застосовні не лише до однієї реакції, а й до ланцюга реакцій, що здійснюється угрупованням.

Зміна стандартної вільної енергії може бути речовин і вільної енергії продуктів реакції за стандартних умов.

Стандартна зміна вільної енергії ΔG° може бути виражена так:

$$\Delta G^{\circ} = \sum G^{\circ}_{\text{продукти}} - \sum G^{\circ}_{\text{реагенти}}. \quad (2.40)$$

Мікроорганізми розвиваються в полі стійкості продукту реакції і нестійкості (метастабільності) субстрату.

Подібно до того як усередині клітини мікроорганізму поєднуються реакції, що дають і споживають енергію, в хімічній системі сполучених окисно-відновних реакцій, здійснюваних мікробним угрупованням, можливе таке їх поєднання, яке в сумі дає енергетичний вигравш, достатній для існування угруповання. Але на відміну від клітини, де є переносник енергії, в угрупованні умови

повинні бути такими, щоб забезпечити вигреш, достатній для існування кожної окремої групи або виду організмів.

Принциповим відкриттям у галузі енергетики взаємодії між організмами було відкриття катаболічної синтрофії М. Бріаном та Е. Воліним у 70-х роках ХХ ст. на основі міжвидового перенесення водню.

Катаболічна синтрофія – здійснення реакції катаболізму лише в разі взаємодії двох організмів. Явище катаболічної синтрофії означає, що угруповання мікроорганізмів можна й необхідно розглядати як біологічну єдність, обумовлену термодинамічними можливостями сукупності його компонентів.

Між групами мікроорганізмів є термодинамічно обумовлені зворотні та регуляторні зв'язки. Наприклад, реакція розкладання ЛЖК на ацетат і водень термодинамічно не вигідна і здатна забезпечити ріст мікроорганізмів лише за дуже низької концентрації продуктів реакції, тобто швидке й повне видалення H_2 . Функцію видалення H_2 виконують гідрогенотрофи (насамперед гідрогенотрофні метаногени і за наявності акцепторів електронів SO_4^{2-} сульфатвідновлювальні бактерії). Організми, здатні до розвитку за умови, що H_2 виділяється зі сфери реакції, одержали назву синтрофів і становлять особливу функціональну групу в угрупованні. З незброджуваних сполук вони утворюють ацетат і водень. Синтрофи розвиваються спільно з H_2 -використовуваними та анаеробними організмами. Серед H_2 -використовуваних бактерій важливі дві групи: літотрофні метаногени і літотрофні сульфідогени. Було описано цілу

низку культур, в яких анаеробне окиснення субстрату обумовлене наявністю H_2 -використовуваного компонента.

Таким чином, в угрупованні принципово важливі зворотні зв'язки, і воно діє як метаболічне ціле. Розглянемо біохімічні моделі трофічних взаємовідношень для деяких аеробних, анаеробних угруповань і бактеріального окиснювального фільтра (газотрофів). Ці мікробні угруповання активно використовуються в процесах біологічного очищення стічних вод.

2.2.3. Аеробне угруповання мікроорганізмів

Центральне місце в аеробному угрупованні займають первинні продуценти – окисненні фотоавтотрофи. Вони вдень є джерелом O_2 та екскретованих органічних речовин, які можуть бути використані супутніми органотрофами, а для судинних рослин – і мешканцями ризоплани, що споживають кореневі виділення. У нічний час фотоавтотрофи використовують запасні речовини для дихання. У тих бентосних угрупованнях ціанобактерій або водоростей, які опиняються вночі в аноксичній зоні, темновий метаболізм може бути забезпечений бродінням запасних вуглеводів у вигляді поліглюкози, а в ціанобактерій – і бродінням аргініну. Основним продуктом первинних продуцентів є мортмаса фотоавтотрофів, що вміщує дві категорії речовин: запасні речовини, що легко розкладаються, і компоненти цитоплазми, переважно розчинні (РОВ) і нерозчинні структурні компоненти, насамперед клітинної стінки (ВОВ), що надходять у вигляді опаду.

Аеробні організми дуже різні і становлять групу, яка привертала більше уваги на рівні чистих культур. Для системи трофічних зв'язків характерна структура збіжних харчових маршрутів у вигляді перевернутого «віяла», де кожна речовина має свою специфічну дію. «Віяло» збігається до CO_2 як кінцевого продукту, і сумарна дія аеробів визначається за диханням: утвореним CO_2 і/або спожитим O_2 . У трофічній системі, крім спеціалізації за субстратами, можна розрізняти групи зимогенів-копіотрофів, гідролітиків, дисипотрофів, автохтонів. Використання речовин, що екскретуються окислювальними фототрофами, приводить організмів до тимчасової експозиції в умовах гіпероксії, і тому аероби цієї групи повинні мати ефективний захист від токсичної дії O_2 , що посилюється дією світла.

Дихання зі споживанням O_2 створює бар'єр для його дифузійного проникнення, забезпечуючи умови для розвитку анаеробного угруповання.

Розчинені речовини є субстратом зимогенної мікрофлори, представлені копіотрофами. Білкові сполуки розкладаються протеолітичним шляхом гниття за участі амоніфікувальних організмів; аміак надходить до нітрифікаторів. У природі етапи деградації можна спостерігати при самоочищенні водотоків, в яких виділяються зони сапробності від сильно забруднених до очищених вод. Моделлю інтенсивного розкладання досяжної органічної речовини є очисні споруди, що аеруються. Критичним чинником є доступність кисню: за високого вмісту органічних речовин надходження його шляхом дифузії стає недостатнім і переважають

факультативно анаеробні організми. Практичним прийомом визначення дихання за рахунок розчинених речовин є визначення «біохімічного споживання кисню» (БСК). Зазвичай визначають споживання O_2 за 5 діб (БСК5) у досліджуваній природній воді або після її розбавлення аерованою водою. БСК є дуже надійною мірою визначення доступної органічної речовини.

Співвідношення швидкостей продукційних і деструкційних процесів можна характеризувати концентраціями розчиненого вуглекислого газу і кисню. Для водоймищ це співвідношення можна виразити залежністю рН і концентрації розчиненого O_2 .

При постійній освітленості та концентрації біомаси фототрофів і гетеротрофів у першому наближенні швидкості процесів фотосинтезу і деструкції можна описати рівняннями:

$$v_{\text{фот}} = k_1 [CO_2], \quad (2.41)$$

$$v_{\text{дест}} = k_2 [CO_2], \quad (2.42)$$

де k_1 і k_2 – константи швидкостей фотосинтезу і деструкції.

Тоді

$$\frac{v_{\text{фот}}}{v_{\text{дест}}} = \frac{k_1 [CO_2]}{k_2 [CO_2]}. \quad (2.43)$$

Виділення CO_2 у процесі дихання спричинює зниження рН у природних водах унаслідок утворення H_2CO_3 . Поглинання CO_2 під час фотосинтезу приводить до підвищення рН.

Отже, у водоймищах співвідношення швидкостей продукції та деструкції можна виразити залежністю

$$\frac{v_{\text{фот}}}{v_{\text{дест}}} = f(\text{pH}, [\text{O}_2]). \quad (2.44)$$

Первинну продукцію та деструкцію визначають за кількістю O_2 , виділеного фотосинтетиками за температури води водоймища, і кількістю O_2 , поглиненого за тих самих температурних умов.

Особливу роль серед речовин, що екскретуються рослинами, виконують леткі органічні сполуки (ЛОС), наприклад терпени, що виділяються рослинами і токсичні для бактерій.

Нерозчинні речовини підлягають гідролізу спеціалізованими групами організмів. У водоймищах зависла органічна речовина (ЗОР) значно осідає на дно і внаслідок повільної дифузії O_2 надходить до анаеробної зони.

У системі аеробних деструкцій характерним продуктом виявляються залишкові речовини, наприклад, лігнін і сполуки, які важко розкладаються, які дають початок гумусовим речовинам. Особливим є розкладання лігніну, здійснюване лише грибами за допомогою перекисного механізму, що принципово залежить від доступності кисню. Фенольні сполуки, утворювані при цьому, використовуються бактеріями. Угруповання грибів як найважливіших деструкцій здеревілої рослинної маси діє на головних трофічних маршрутах у лісових екосистемах. Для водоймищ гриби нехарактерні і є вторинними вселенцями.

2.2.4. Анаеробне угруповання мікроорганізмів

Процес анаеробного бродіння складається з декількох етапів або фаз. Слід зазначити, що перша фаза зазвичай є гідролітичною/ацидогенною, адже складні полімерні органічні сполуки не під силу перетворювати ні метаногенам, ні ацетатогенам, ні сульфатовідновлювальними бактеріям. А ось утворені гідролітиками прості сполуки (H_2 , CO_2 та ін.) є одночасно субстратом для різних груп мікроорганізмів, тому можна стверджувати, що в просторі біореактора, як і в природній мікробіологічній системі, ці групи бактерій одночасно споживають дані сполуки і відбувається конкуренція за них.

Лімітувальну стадію біоконверсії органічної речовини (ОР) багато дослідників визначають як гідролітичну. Під час гідролізу відбуваються руйнування клітинної стінки і деградація позаклітинних полімерних речовин, у результаті утворюються доступні органічні матеріали для кислотоутворювальних мікроорганізмів. Цей процес особливо важливий для розкладання опадів стічних вод, оскільки основною складовою його органічної фракції є клітковина – несприятливий субстрат для мікробної деградації.

З іншого боку, більшість видів метаноутворювальних архебактерій мають нижчі швидкості росту, ніж мікроорганізми, які функціонують у рамках інших стадій процесу анаеробного зброджування (Заварзін і Колотилова, 2001). Отже, результативне перетворення проміжних продуктів (простих органічних кислот, водню та ацетату) на CH_4 може бути розглянуте як стадія, що лімітує швидкість усього процесу для розкладання органовмісних відходів,

не розглядаючи їх специфіки (складу). В різних місцях, де утворюється метан, відбувається також утворення оцтової кислоти. Підкислювання середовища у відстійниках водоочисних споруд (ця проблема також виникає під час роботи метантенків), ймовірно, пов'язане з діяльністю бактерій, які перетворюють CO_2 і молекулярний водень на оцтову кислоту (ацетогенні бактерії) (за Р. Шлегелем, 1987). Отже, визначення лімітувальної стадії пов'язане з експериментальними дослідження певних ферментних процесів.

Мікробна система входить до фази динамічної рівноваги лише за наявності збалансованих зв'язків на рівні субстрату і продуктів метаболізму між різними групами мікроорганізмів. Наприклад, для ефективної роботи анаеробного угруповання критичною є наявність ацетокластичних метаногенів або сульфатредукторів, здатних засвоювати ацетат із низькими концентраціями, що не дає у подальшому можливості його накопичення в реакторі. Необхідно зазначити, що насамперед у системі утилізувався водень і лише з великою затримкою починає утилізуватися ацетат. Тому взаємозв'язок між гідрогенотрофними й ацетатокластичними метаногенами дуже важливий.

У біохімічній моделі анаеробної деструкції органічних відходів на рис. 2.3 подані субстратно-продуктні зв'язки, які виникли при накладенні схем метаногенезу, гомоацетогенезу і сульфідогенезу, що спричинене вмістом в органічних відходах речовин (сполук сірки та ін.), споживаних різними групами мікроорганізмів.

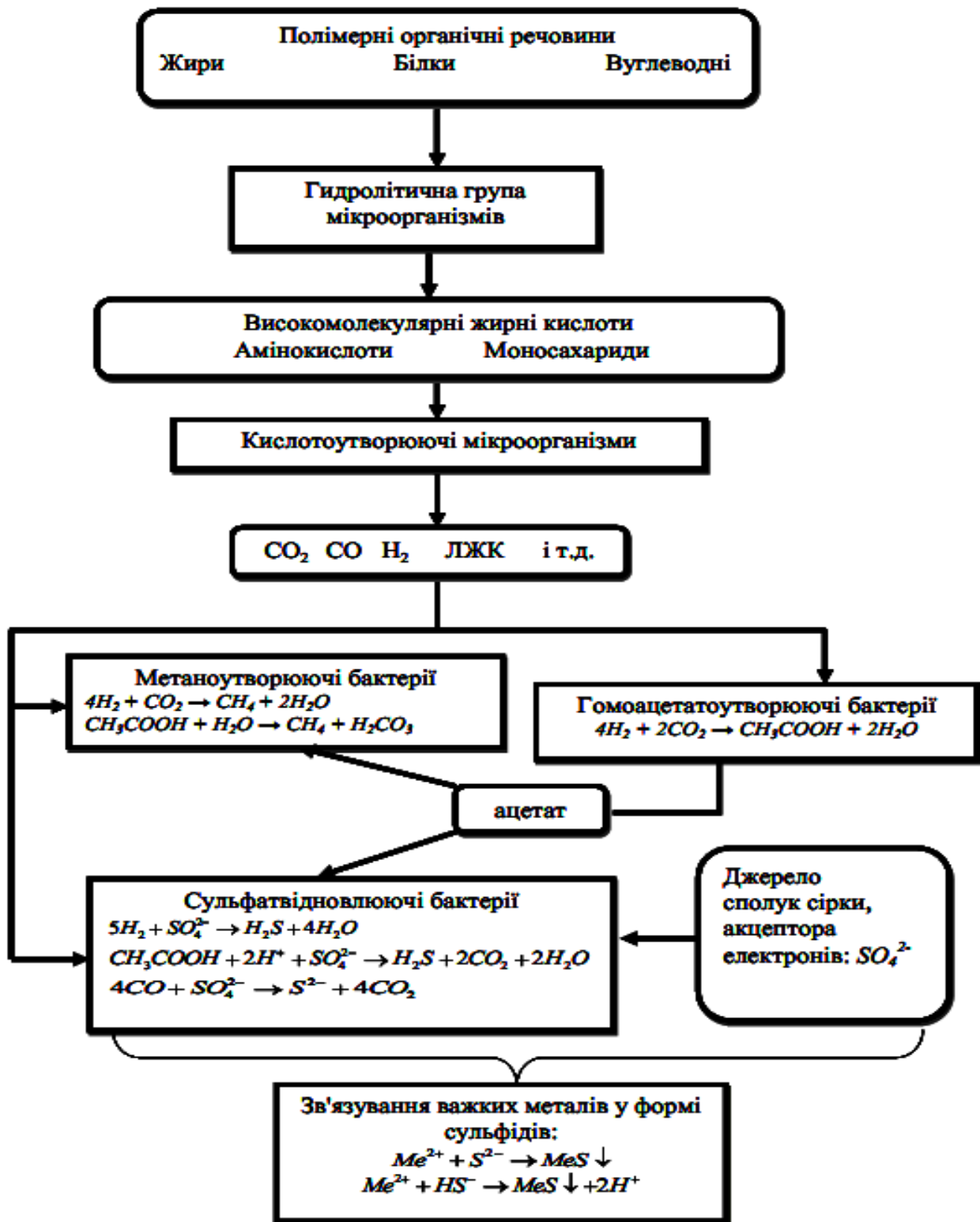


Рисунок 2.3 – Біохімічна модель анаеробного угруповання мікроорганізмів-деструкторів (Є. Ю. Черниш, Л. Д. Пляцук, 2011)

Необхідно відзначити, що, оцінюючи конкуренцію, потрібно враховувати й початкове співвідношення біомаси конкурувальних

організмів. Особливо важливо це для організмів, які повільно ростуть. *Надлишкові організми можна отримати навіть за гірших для цих умов кінетичних характеристик.*

Важливе місце займають сульфатовідновлювальні бактерії (далі – СВБ) у процесі анаеробної біосорбції іонів важких металів (ВМ). Це один із механізмів стійкості СВБ до дії іонів ВМ унаслідок відновлення їх у нерозчинну або малорозчинну форму сульфідів за допомогою власного метаболіту-сірководню.

Біогенний сірководень у водному розчині взаємодіє у формі гідросульфід/сульфід іонів з іонами ВМ. Хімічні реакції, що відбуваються в осадах:



де Me – загальне позначення іонів ВМ; MeS – загальне позначення сульфідів ВМ.

Унаслідок діяльності СВБ зі стічних вод осідають сульфіди кобальту, нікелю, кадмію, заліза, свинцю, цинку та інші. Цей механізм стійкості бактеріальних клітин до дії токсичних речовин, на наш погляд, може ефективно застосовуватися для осадження і видалення ВМ із промислових стічних вод.

Таким чином, якщо угруповання розвивається в умовах надходження сульфату, то місце метаногенів займають сульфідогени. Вони здійснюють вихід H_2 , забезпечуючи роботу синтрофів і сприятливий термодинамічний баланс угруповання. *Процес сульфатредукції енергетично вигідніший порівняно з метаногенезом.*

Результатом участі сульфідогенів є утворення H_2S , який пригнічено діє на більшість угруповань, за винятком тіофільних, що окиснюють сірководень до сульфату. Для метаногенного угруповання звичайна концентрація 2–3 мМ H_2S і перевищення її вимагають зміни угруповання з появою інших видів у тих самих функціональних групах мікроорганізмів.

Регенерація сульфату можлива різними шляхами: або H_2S окиснюється в аеробних умовах або анаеробно окиснюється в сульфат аноксигенними фототрофними бактеріями. Характерним у взаємодії сульфідогенного і метаногенного угруповань є існування так званого «неконкурентного C-шляху». Наприклад, при розкладанні пектину утворюється метанол, не використовуваний сульфатредукторами, але окиснюваний метилотрофними метаногенами. Навіть при надлишку сульфату і пригніченні інших метаногенів, наприклад у гіперсолоних водоймищах, метилотрофні метаногени продовжують діяти «неконкурентним шляхом» метаногенезу і бути джерелом метану.

На відміну від метаногенів СВБ залежать від наявності екзогенного джерела акцепторів електронів, тобто від концентрації сульфату та швидкості його надходження. За відсутності сульфату СВБ можуть функціонувати як синтрофні ацетогени. У цьому разі вони ростуть із метаногенами як організмами, що видаляють водень.

Таким чином, в анаеробній біотехнологічній системі субстратно-продуктні зв'язки виникають при накладенні трофічних схем метаногенезу, гомоацетогенезу і сульфідогенезу. Це необхідно враховувати для того, щоб запобігти виникненню аварійних ситуацій

в системі, під час прогнозування процесу біоконверсії органічних відходів для знаходження відповідних важелів впливу на нього, спрямованих на стимулювання розвитку необхідних видів мікроорганізмів, таких як метаногенів, якщо біотехнологія спрямована на виробництво біогазу, або сульфідогенів, якщо первинне значення має видалення важких металів.

2.2.5. Бактеріальний окиснювальний фільтр

Коли продукти анаеробного обміну надходять до зони, де наявний O_2 , то вони стають доступними для окиснення аеробами. Це угруповання мікроорганізмів одержало назву «бактеріального окиснювального фільтра» або, у зв'язку з тим що важлива частина продуктів анаеробного обміну представлена відновленими газами, – «газотрофів». Аеробне окиснення продуктів обміну вторинних анаеробів є альтернативою їх фототрофному окисненню. Угруповання газотрофів не утворює чітких зв'язків між собою, як анаероби-органотрофи, оскільки, по суті, використовує алохтонну речовину, що надходить до його зони розвитку ззовні. Загальним субстратом, за який йде конкуренція, є O_3 . Відповідно газотрофи становлять ряд градацій від аеробів до мікроаерофілів і факультативних анаеробів. Цей ряд виражається в розміщенні газотрофів у вигляді плівок або тонких зон у ділянці окисліну або кисневого стрибка, обумовленого різким зниженням концентрації O_2 . Тому їх відносять до так званих градієнтних організмів, що розвиваються в перехідній зоні від відновлених до окиснювальних умов. Найбільш характерними представниками цієї групи є безбарвні

серобактерії, шари яких часто забарвлені в яскраво-білий колір відкладеннями сірки. Градієнтні організми дуже важко піддаються культивуванню в лабораторних умовах.

Газотрофи відіграють роль захисного фільтра від кисню для анаеробного угруповання, перешкоджаючи проникненню O_2 в нижчерозміщені шари. Вони є причиною виникнення в стратифікованих водоймищах хемокліну, що є геохімічним бар'єром для рухомих сполук. Окиснюваними сполуками є CH_4 – для метанотрофів, H_2 – для водневих бактерій, CO – для карбоксидобактерій, NH_3 – для нітрифікаторів, H_2S – для серобактерій, стійких до окиснення сполуки сірки, як тіосульфат – для тіонових бактерій. Більшість газотрофів – високоспеціалізовані організми, але частина з них, таких як водневі бактерії, належать до факультативно автотрофних організмів. Газотрофи становлять критично важливу групу для складу атмосфери, запобігаючи виходу в неї таких газів, як метану.

У таблиці 2.1 подані основні механізми дихальних процесів різних організмів, багато з яких використовують у біотехнології (метаноутворювальні бактерії, сульфатовідновлювальні та амоніфікувальні бактерії, клітинні культури лікарських рослин і т. п.) або належать до перспективних для практичного застосування.

У результаті діяльності тіонових бактерій, а також безбарвних і забарвлених серобактерій відбувається окиснення значної частини сірководню та інших сполук сірки. Причому в деяких випадках має місце відкладення значної кількості сірки. Активне окиснення сірки тіоновими бактеріями в ґрунті набуло практичного застосування.

Наприклад, для зменшення лужності ґрунту вносять елементарну сірку, яка швидко окиснюється цими мікроорганізмами з утворенням сірчаної кислоти. Проводять дослідження з використання бактерій роду *Thiobacillus* у безреагентному біокаталітичному очищенні сірководневмісних газів.

2.2.6. Застосування мікробних асоціацій у біотехнологіях захисту довкілля

Основою біотехнологічних методів захисту довкілля є різноманітність шляхів обміну речовин мікроорганізмів: серед безлічі варіантів знайдеться хоча б один представник, здатний утилізувати найнезвичайніші, зокрема й токсичні, сполуки.

Останні десятиліття характеризуються надходженням у довкілля величезної кількості різних за будовою синтетичних органічних сполук (ксенобіотиків), часто токсичних для живих організмів. Деякі ксенобіотики накопичуються в довкіллі через певне відставання еволюційних процесів мікроорганізмів, спрямованих на вироблення у них здатності до катаболізму, тобто деградації цих сполук. Нині стоїть завдання максимального використання потенціалу мікроорганізмів, які мають величезну різноманітність ферментів, що здійснюють реакції деструкції різних ксенобіотиків. Використання цього потенціалу і є «біоремедіація».

Якщо в ґрунті або воді, забрудненій ксенобіотиками, відсутні мікроорганізми, здатні до ефективною деградації цих сполук, доцільна інтродукція туди мікроорганізмів-біодеструкторів. Використовувані з цією метою мікроорганізми можуть бути:

- природними, що повертаються в довкілля;
- селектованими;
- сконструйованими з використанням природних способів горизонтального перенесення генетичної інформації (кон'югація, трансформація, трансдукція);
- отриманими методом так званого молекулярного бридингу;
- сконструйованими методами генної інженерії;
- отриманими з використанням методу білкової інженерії;
- отриманими комбінацією зазначених підходів і методів.

Хоча переважна більшість синтетичних органічних сполук з'явилися в довкіллі зовсім недавно, в природі вже існують мікроорганізми, здатні до деградації деяких із цих сполук.

Біодеградація нафтових забруднень на ґрунті та воді

При аварійних розливах нафти забруднені території обробляють спеціально вирощеною асоціацією нафтоокиснювальних мікроорганізмів, вносячи різні добавки для їх азотистого і фосфорного живлення. Це дозволяє утилізувати вуглеводи нафти, перетворюючи їх на біомасу мікроорганізмів і діоксид вуглецю.

Як бачимо, найпоширенішим є забруднення нафтою і різними нафтохімічними продуктами. Існує ряд технологій оброблення забруднених ґрунтів. Найбільш поширені спалювання, захоронення і біоокиснення. За наявним порівняльним оцінюванням біоокиснення є найбільш дешевим, екологічно безпечним і перспективним методом. У літературі для позначення цього процесу використовують терміни «біодеградація», «біовідновлення», «біорекультивация» і «біоремедіация».

Біологічне очищення стоків

Існують мікроорганізми, для яких забруднення, що містяться в стічних водах, є живильними речовинами. Розроблений метод аеробного біологічного очищення стічних вод за допомогою активного мулу – угруповання мікроорганізмів. У великих резервуарах із перемішуванням і постійною аерацією рідини переробляють великі об'єми господарсько-побутових і промислових стоків. Звичайне очищення видаляє в основному органічні забруднення. Якщо ж у стоках містяться важкі метали (мідь, нікель, кадмій, хром, свинець та ін.), то потрібні додаткові заходи очищення. Є певні види мікроорганізмів, на яких здатні осідати (сорбувати) метали, розчинені в рідині. Концентрація металів при цьому зростає настільки, що після теплового оброблення біосорбент можна розглядати як сировину для одержання кольорових металів.

Вищеописані основні положення рівнянь ферментативного каталізу можуть бути застосовані й до формування уявлень про механізм складних біохімічних перетворень виробничих стічних вод під впливом мікроорганізмів активного мулу. Тут необхідно враховувати, що біохімічний процес окиснення забруднювальних речовин в аеротенку є комплексом одночасно й різних реакцій, що послідовно відбуваються за участі великої кількості різних за природою ферментних систем.

У технології очищення стічних вод під субстратом розуміють концентрацію забруднювальних речовин за БСКп очищуваних стічних водах, а концентрація активного мулу еквівалентна концентрації ферментів. Уявлення про кінетику окиснення

органічних речовин промислових стічних вод ускладнюється умовами проходження біохімічних реакцій, тобто гідродинамічними умовами процесу очищення, обумовленими конструктивними особливостями й типом експлуатованого аеротенка (змішувач, витискувач), а також рядом інших причин. Тому розрахунок аеротенка необхідно проводити за показником швидкості сумарної ферментативної реакції. Проте для розроблення науково обґрунтованого режиму біохімічного окиснення стічних вод хімічних виробництв багатоконпонентного складу необхідно виявити кінетичні характеристики, що описують залежність питомої швидкості окиснення від величини субстрату. Одержані при цьому уявлення про максимальну швидкість окиснення субстрату дозволяють вибрати оптимальний режим експлуатації аеротенків під час очищення досліджуваних стічних вод.

Дослідження авторів показали, що часто кінетика окиснення стічних вод хімічних виробництв активним мулом описується сигмоподібною кривою (стічні води виробництва капролактаму, формальдегіду та ін.). Це свідчить про те, що за низьких концентрацій субстрату активні центри ферментів мають низьку каталітичну активність. Аналіз кінетики окиснення окремих компонентів стічних вод дозволяє вибрати метод і схему очищення, визначити технологічний режим роботи біохімічних очисних споруд і вирішити питання про необхідність вилучення із суміші стічних вод найбільш токсичних компонентів, вибрати метод їх локального очищення.

Диференційований кінетичний аналіз суміші трьох видів стічних вод заводу синтетичного каучуку дозволив набути числових значень кінетичних констант для всіх категорій досліджуваних стічних вод і на підставі цих величин визначити параметри технологічного процесу та умови експлуатації очисних споруд.

Наявність азоту у виробничих стічних водах стимулює метаболічну активність нітрифікувальних бактерій активного мулу, які в аеробних умовах окиснюють амонійний азот до нітратів. Стехіометрично ці реакції потребують 4,57 г кисню на 1 г окисненого аміаку. Процес нітрифікації в практиці очищення стічних вод відіграє важливу роль, оскільки є кінцевою стадією окиснювальних процесів, що відбуваються в аеротенку. Азот потрібний мікроорганізмам у великих кількостях, оскільки його вміст у бактерій становить приблизно 10 г із розрахунку на суху біомасу.

Асиміляція аміаку та нітратів чистими культурами мікроорганізмів підлягає кінетичному рівнянню Міхаеліса – Ментен. У середовищі з високою концентрацією аміаку мікроорганізми споживають його в результаті відновного амінування проміжного продукту циклу трикарбонових кислот аоксоглутарату. Реакція каталізується ферментом глутаматдегідрогеназою. Установлено, що за низьких концентрацій аміаку цей фермент не бере участі в первинній асиміляції аміаку, оскільки за низької концентрації останнього він неактивний. За низьких концентрацій аміак асимілюється за допомогою іншого ферменту – глутамінсинтетази.

У виробничих і господарсько-побутових стічних водах азот трапляється у вигляді аміаку, нітриту, нітратів, карбаміду, а також у

ряді органічних азотовмісних сполук природного і неприродного походження. Переважним джерелом азоту для гетеротрофного населення активного мулу є аміак; окиснені форми азоту спочатку підлягають процесам відновлення до аміаку, а потім залучаються до процесів біосинтезу. Органічні сполуки попередньо розщеплюються з вивільненням аміаку, що в подальшому використовується в процесі споживання.

Відновлення нітратів може відбуватися у процесі очищення стічних вод лише в анаеробних умовах або за низьких концентрацій кисню, тобто кисень інгібує активність ферментів, що здійснюють дисиміляційне відновлення нітратів. Денітрифікація характеризується повним окисненням органічного субстрату до CO_2 . Поява денітрифікації в процесі очищення стічних вод в аеротенку свідчить про дисбаланс у співвідношенні органічних речовин і розчиненого кисню. Останнє обумовлює існування локальних безкисневих зон в аеротенку і вторинному відстійнику, що є активними ділянками процесів денітрифікації. Денітрифікація негативно позначається на роботі вторинних відстійників, оскільки наслідками цього процесу є спливання на поверхню великих мас активного мулу, пронизаних пухирцями газу, і винесення мулу у водоймище. У той самий час в практиці очищення стічних вод процес денітрифікації широко використовують як локальний метод оброблення стічних вод та їх доочищення від надлишкової кількості сполук азоту перед їх випусканням у водоймище.

Необхідною для життя мікроорганізмів мінеральним елементом є сірка. Вона входить до складу протеїнів і ряду інших речовин, що

мають значення для фізіології живлення бактерій. Ряд категорій стічних вод хімічних виробництв містить окиснені сполуки сірки у вигляді сульфатів. Гетеротрофні мікроорганізми активного мулу можуть піддавати метаболізму сульфати з подальшим включенням сірки в клітинний матеріал. В умовах недостатнього доступу кисню і тривалого перебування зворотного мулу у вторинних відстійниках і приймальних камерах насосних станцій у ньому за наявності сульфатів розвиваються сульфатовідновлювальні бактерії, які перетворюють сульфати на H_2S . Цю групу мікроорганізмів формують спеціалізовані анаероби, а також ряд звичайних бактерій.

За наявності заліза сірчистий водень реагує з останнім, утворюючи сульфіди, які можуть забарвлювати активний мул в синій або чорний колір. Подібні явища спостерігаються в практиці експлуатації очисних споруджень хімічних виробництв і можуть бути доказом порушення технологічного режиму на стадії відстоювання і повернення активного мулу.

Біокомпостування твердих органічних відходів

Аналогом аеробного очищення стоків є аеробне біокомпостування твердих відходів. У тверді відходи можуть вносити інокулянт із суміші угруповань різних видів мікроорганізмів-деструкторів полютантів різної природи, а також вносять баластний матеріал типу торфу. Це дозволяє перетворити відходи на добриво або просто використовувати їх для підсипання доріг, на будівництві та в інших випадках.

В основу біотермічного оброблення покладено самонагрівання ТПВ (твердих побутових відходів) до $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ і вище під впливом

життєдіяльності термофільних (що люблять тепло) мікроорганізмів. Це має місце в умовах пухкого вмісту органічних відходів вологістю від 40–45 до 70–75 % за утрудненої тепловіддачі. Зазвичай такі умови створюються самі по собі при зберіганні великої кількості вологого сіна, соломи, листя, бадилля, торфу, кінського гною, овочів, картоплі, будинкового сміття та ін. Цим самим процесом із давніх часів користуються для обігрівання парників і теплиць кінським гноєм для раннього визгону овочів.

Компостування дозволяє істотно скоротити паливно-енергетичні витрати на знезараження опадів і поліпшити їх санітарно-гігієнічні показники (внаслідок загибелі хвороботворних мікроорганізмів, яєць гельмінтів і личинок мух). У процесі життєдіяльності аеробних мікроорганізмів відбуваються вживання і витрата органічних речовин, тому біотермічний процес найбільш ефективний під час компостування сирих незброджених опадів. Можливе вживання процесу біотермічного оброблення у поєднанні з анаеробним зброджуванням опадів у мезофільних умовах.

Процес компостування складається з двох фаз. Перша фаза продовжується впродовж 1–3 тижнів і супроводжується інтенсивним розвитком мікроорганізмів, а температура осаду підвищується до 50–80 °С. При цьому відбуваються знезараження осаду і зменшення його маси. Друга фаза – дозрівання компосту – триваліша. Вона продовжується від двох тижнів до 3–6 місяців і супроводжується розвитком простих і членистоногих організмів, зниженням температури до 40 °С та нижче. Підвищення температури оточуючого повітря інтенсифікує процес розкладання органічних речовин.

Для рівномірного прогрівання і забезпечення мікроорганізмів повітрям у період компостування потрібне 2–3-разове перемішування компостованої маси. Залежно від складу осаду, тривалості й умов компостування кількість органічних речовин скорочується на 25–40 %.

Унаслідок проведення процесу біотермічного оброблення отримують компост у вигляді сипкого матеріалу вологістю 40–50 %. Готовий компост не має запаху, не загниває і є хорошим добривом.

Органічні відходи з великою кількістю води, наприклад, гній коров'ячий, свинячий, сирі осідання стічних вод вологістю більше ніж 75 % та ін., розігріваються погано і не дають високої температури, тому що в них відсутнє повітря. Для біотермічного перероблення до них потрібно додавати сухий матеріал – листя, торф, солому, сухе сміття та ін. Сухі відходи, навпаки, необхідно зволожувати. Найінтенсивніше біотермічні процеси проходять при слабколужній реакції, тому до відходів рекомендують додавати гашене вапно з розрахунку приблизно 1 кг на 1 м³ відходів. За температури вище ніж 50 °С інтенсивно проходять процеси гуміфікації; процеси нітрифікації тут не застосовують, тому отримуваний після біотермічного перероблення відходів і подальшого грохотіння тук є дуже цінним для сільського господарства перегноєм.

До біотермічних методів знешкодження ТПВ відносять:

– перероблення ТПВ без його попередньої підготовки шляхом компостування в штабелях, безкамерним способом з аерацією і в біотермічних камерах, а також у спеціальних установках;

– перероблення ТПВ з його попередньою підготовкою і подальшим знешкодженням у штабелях або в спеціальних установках.

Біогеотехнологія вилуговування металів

Використовуються в основному асоціації тіонових (що окиснюють сірку і сірковмісні сполуки) бактерій для добування металів із руд, рудних концентратів та гірських порід. Під час перероблення бідних і складних руд тисячі й навіть мільйони тонн цінних металів втрачаються у вигляді відходів, шлаків, «хвостів». Відбуваються також викиди шкідливих газів в атмосферу. Бактеріально-хімічне вилуговування металів зменшує ці втрати. Основою цього процесу є окиснення сульфідних мінералів, що містяться в рудах, тіоновими бактеріями. Окиснюються сульфіди міді, заліза, цинку, олова, кадмію і т. д. При цьому метали з нерозчинної сульфідної форми переходять у сульфати, добре розчинні у воді. Із сульфатних розчинів метали добувають шляхом осадження, екстракції, сорбції. Одним із можливих шляхів добування металів із розчинів є адсорбція металів клітинами живих мікроорганізмів, так звана біосорбція металів. Метали входять до складу специфічних білків – металотіонеїнів.

2.3. Віруси, їх використання в процесах екологізації

сільського господарства

Бакуловіруси – це дволанцюгові ДНК-віруси, в трьох їх групах є біопестициди: віруси ядерного поліедрозу (ВЯП), віруси гранульозу (ВГ), фільтрівні віруси. Виробництво вірусних препаратів

ґрунтується на масовому розмноженні комахи-хазяїна на штучних середовищах. Існує два методи вживання вірусних препаратів: інтродукція вірусів у щільні популяції комах на порівняно невеликих площах та оброблення заражених ділянок шляхом обприскування або запилення на ранніх стадіях розвитку личинок. Удосконалення і розвиток технології клітинних культур комах, а також відбір і навіть створення нових вірусів, ураховуючи виробництво еукаріотних вірусів у прокаріотах, можуть вплинути на конкурентоспроможність вірусних пестицидів порівняно з хімічними препаратами.

2.4. Ферменти

2.4.1. Одержання та використання ферментних систем в екологічній біотехнології

Особлива група біологічних агентів в біотехнології – ферменти, так звані каталізатори біологічного походження. Ферменти і ферментні системи широко використовують у різних галузях промисловості, медицині, сільському господарстві, хімічному аналізі тощо.

Як виробляють мікробіальні ферменти?

Мікробіальні ферменти отримують вирощуванням мікробіальних клітин у спеціальних умовах, щоб клітини виробляли максимальний об'єм активних ферментів. Для збереження цілісності великої кількості ферментів важливо контролювати умови довкілля під час вироблення.

Після припинення росту бактеріальних клітин і вироблення ними ферментів їх розділяють спеціально розробленими методами. Ферменти проходять додаткове очищення до потрібного стану.

Що впливає на активність і стабільність ферментів?

Рівні оброблення відходів зазвичай передбачають будь-які умови довкілля, за яких повинні нормально функціонувати ферменти. Для оптимального використання каталітичного потенціалу ферментів необхідно ознайомитися з основними принципами, що впливають на їх активність і стабільність.

Багато чинників довкілля впливають на активність біологічних ферментів, вироблюваних для комерційного використання; рН довкілля найсильніше впливає на активність і стабільність ферментів, і його оптимальний рівень для різних ферментів сильно варіює. Для ферментів, вироблюваних більшістю мікроорганізмів, використовуваних із комерційною метою, оптимум перебуває в межах від 4,0 до 7,5 рН. Інший важливий чинник, що впливає на активність і стабільність ферментів, – температура. Оскільки ферменти є біохімічними каталізаторами, що складаються в основному з білка, вони чутливі до дії температур. Підвищення температури довкілля до оптимальної збільшує міру активності ферменту. Проте вищі температури призводять до швидкої деградації ферменту з подальшим необоротним спадом активності.

Ферменти – речовини білкової природи і тому є нестійкими під час зберігання, а також чутливими до теплових дій. Крім того, ферменти не можуть бути використані багато разів через труднощі у відділенні їх від реагентів і продуктів реакції. Вирішити ці проблеми

допомагає створення іммобілізованих ферментів. Початок цього методу покладено в 1916 році, коли Дж. Нельсон і Е. Гріффін адсорбували на вугіллі інвертазу і показали, що вона зберігає у такому вигляді каталітичну активність. Сам термін «іммобілізовані ферменти» узаконений у 1971 році та означає будь-яке обмеження свободи пересування білкових молекул у просторі.

Суть іммобілізації ферментів – прикріплення їх в активній формі до нерозчинної основи або поміщення у напівпроникну мембранну систему. Прикріплення ферменту до носія здійснюється адсорбційним, хімічним зв'язком або шляхом механічного включення ферменту в органічний або неорганічний гель (у капсулу і т. п.). При цьому допускається прикріплення ферменту лише за рахунок функціональних груп, що не входять до активного центру ферменту і не беруть участі в утворенні фермент-субстратного комплексу. Носій ферменту або матриця може мати вигляд зернистого матеріалу, волокнистої структури, пластинчастої поверхні, плівок або тканин, порожнистих волокон, трубочок, капсул і т. д. Має значення розмір частинок носія. Важливо мати велику поверхню, тому рекомендуються невеликі частинки діаметром 0,1–0,2 мм. Носієм ферменту може бути як природна речовина, так і синтетичний полімер.

Переваги іммобілізованих ферментів перед нативними попередниками:

1. Гетерогенний каталізатор легковідділюваний від реакційного середовища, що дає можливість зупинити реакцію у будь-який

момент, використовувати фермент повторно, а також отримувати чистий від ферменту продукт.

2. Ферментативний процес із використанням іммобілізованих ферментів можна проводити безперервно, регулюючи швидкість каталізованої реакції і вихід продукту.

3. Модифікація ферменту цілеспрямовано змінює його властивості, такі як специфічність (особливо відносно макромолекулярного субстрату), залежність каталітичної активності від рН, іонного складу та інших параметрів середовища, стабільність до денатуруючих дій.

4. Регулювання каталітичної активності іммобілізованих ферментів шляхом зміни властивостей носія дією фізичних чинників, таких як світло і звук. Іммобілізацію ферментів проводять шляхом: скріплення на нерозчинних носіях шляхом внутрішньомолекулярного або міжмолекулярного зшивання білкових молекул низькомолекулярними біфункціональними сполуками, а також шляхом приєднання до розчинного полімеру.

Ферменти все більше застосовують у різних біотехнологічних процесах і галузях господарювання, але до 60-х років ХХ ст. цей напрям стримувався труднощами їх одержання, нестійкістю, високою вартістю. Як окрему галузь у створенні і використанні нових біологічних агентів необхідно виділити іммобілізовані ферменти, що є гармонійно функціонуючою системою, дія якої визначається правильним вибором ферменту, носія і способу іммобілізації. Перевага іммобілізованих ферментів порівняно з розчинними полягає в стабільності та підвищеній активності, утриманні в об'ємі реактора,

можливості повного й швидкого відділення цільових продуктів та організації безперервних процесів ферментації з багаторазовим використанням біологічного агента.

Імобілізовані ферменти відкривають нові можливості у створенні біологічних мікропристроїв для використання в аналітиці, перетворенні енергії та біоелектрокаталізі.

Для деградації та модифікації антропогенних органічних сполук, що надходять у довкілля, використовують ферменти різних класів, зокрема: ліпазу – розкладає жири і масла; протеазу – розкладає білки; целюлазу – розкладає целюлозу; амілазу – розкладає вуглеводи і крохмаль, а також лігніназу, тирозиназу, монооксигеназу, діоксигеназу та ін. Для більш глибокого розуміння механізмів роботи ферментних систем, а отже, можливості їх використання, розглянемо деякі кінетичні особливості ферментних реакцій.

2.4.2. Біофізичні основи ферментативних реакцій

Основні шляхи підвищення швидкості реакції – це використання температурного чинника або каталізаторів. У разі застосування неорганічних або синтетичних каталізаторів необхідно використовувати здебільшого високі температури. Але біокаталізатори ефективно працюють за порівняно низьких температур. Швидкості реакцій залежать від концентрацій субстратів. Коли фермент насичений субстратом, він не може функціонувати швидше – це й є максимальна швидкість реакції (V_{max}), тобто якщо частка вільного ферменту виявляється гранично низькою.

Загальна швидкість ферментативної реакції повинна бути пропорційною концентрації фермент-субстратного комплексу ES (E – ензим, S – субстрат). Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату графічно подається гіперболічною кривою (рис. 2.8). K_m на рисунку є константою Міхаеліса – Ментен, тобто концентрацією специфічного субстрату, за якої конкретний фермент забезпечує швидкість реакції, що дорівнює половині V_{max} . До цього часу аналіз кінетики ферментативних реакцій проводять на основі такого математичного рівняння Міхаеліса – Ментен:

$$V_0 = \frac{V[S]_{max}}{K_m + [S]} \quad (2.46)$$

де V_0 – початкова швидкість при концентрації S ; V_{max} – максимальна швидкість; K_m – константа Міхаеліса – Ментен для цього ферменту, що відповідає певному субстрату. Це рівняння за своєю формою відповідає рівнянню Моно.

Часто перетворюють рівняння Міхаеліса – Ментен для одержання яких-небудь переваг під час вивчення кінетичних ферментативних рівнянь. Зокрема, до таких перетворень відносять рівняння Лайнуївера – Берка:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}} \cdot \quad (2.47)$$

Згідно з цим рівнянням за графіком, побудованим у подвійних обернених координатах, можна точніше визначити V_{max} (рис. 2.4, 2.5).

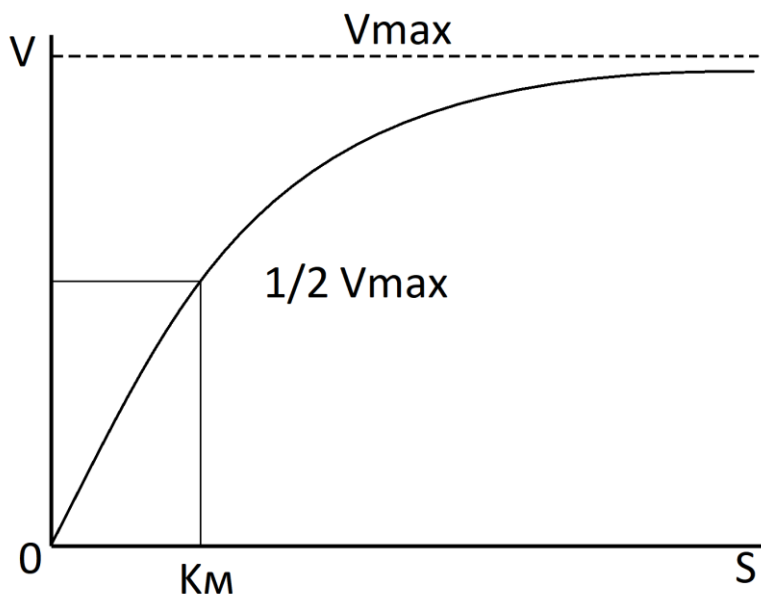


Рисунок 2.4 – Залежність швидкості (V) ферментативної реакції від концентрації субстрату (S)

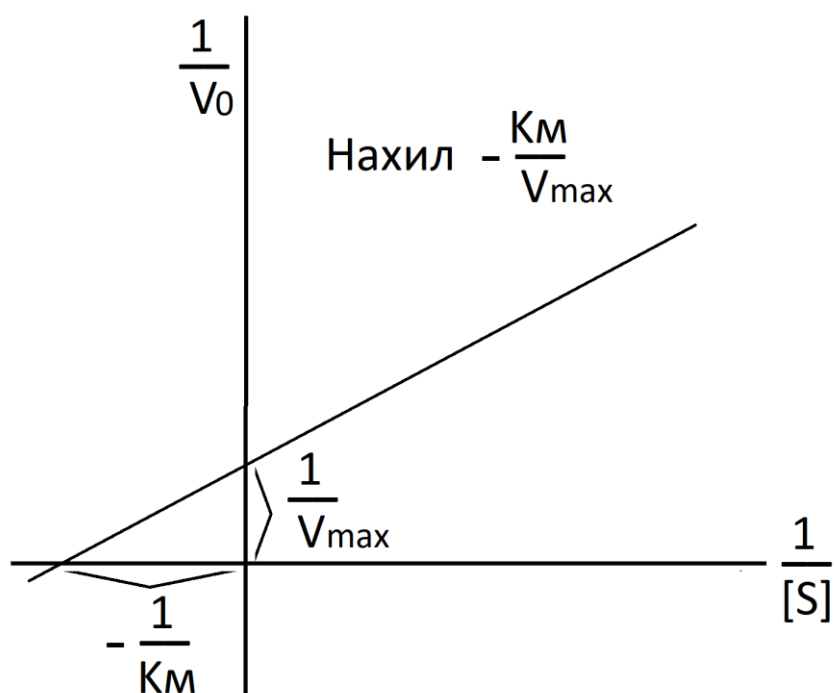


Рисунок 2.5 – Графік подвійних обернених координат

Таким чином, спектр процесів, в яких можна використати ферменти або ферментні системи, дуже широкий. Розвиток екологічної біотехнології неможливо уявити без біокаталітичних реакцій різного рівня, пов'язаних насамперед із біодеградацією різного роду забруднювальних речовин і реалізацією маловідхідних виробництв.

2.5. Рослини

2.5.1. Фіторемедіаційні процеси

Фіторемедіація – це технологія відновлення забрудненого середовища з використанням різних видів рослин. Фіторемедіаційну технологію застосовують безпосередньо в районі забруднення, вона сприяє зниженню витрат і зменшенню контакту забрудненого ксенобіотика з людьми і довкіллям. Найголовніше те, що після фіторемедіації ґрунт не втрачає своєї родючості. Отже, ця технологія є екологічно безпечною та економічно вигідною.

Рослина впливає на довкілля різними способами. Основними з яких є (рис. 2.6):

- ризофільтрація – корені всмоктують воду та хімічні елементи, необхідні для життєдіяльності рослин;
- фітоекстракція – накопичення в організмі рослини небезпечних забруднень (наприклад, важких металів);
- фітоволатилізація – випаровування води і летких хімічних елементів (As, Se) листям рослин;
- фітотрансформація:
 - фітостабілізація – переведення хімічних сполук у менш рухому та активну форми (знижує ризик поширення забруднень);

- фітодеградація – деградація рослинами і симбіотичними мікроорганізмами органічної частини забруднень;
- фітостимуляція – стимуляція розвитку симбіотичних мікроорганізмів, що беруть участь у процесі очищення.

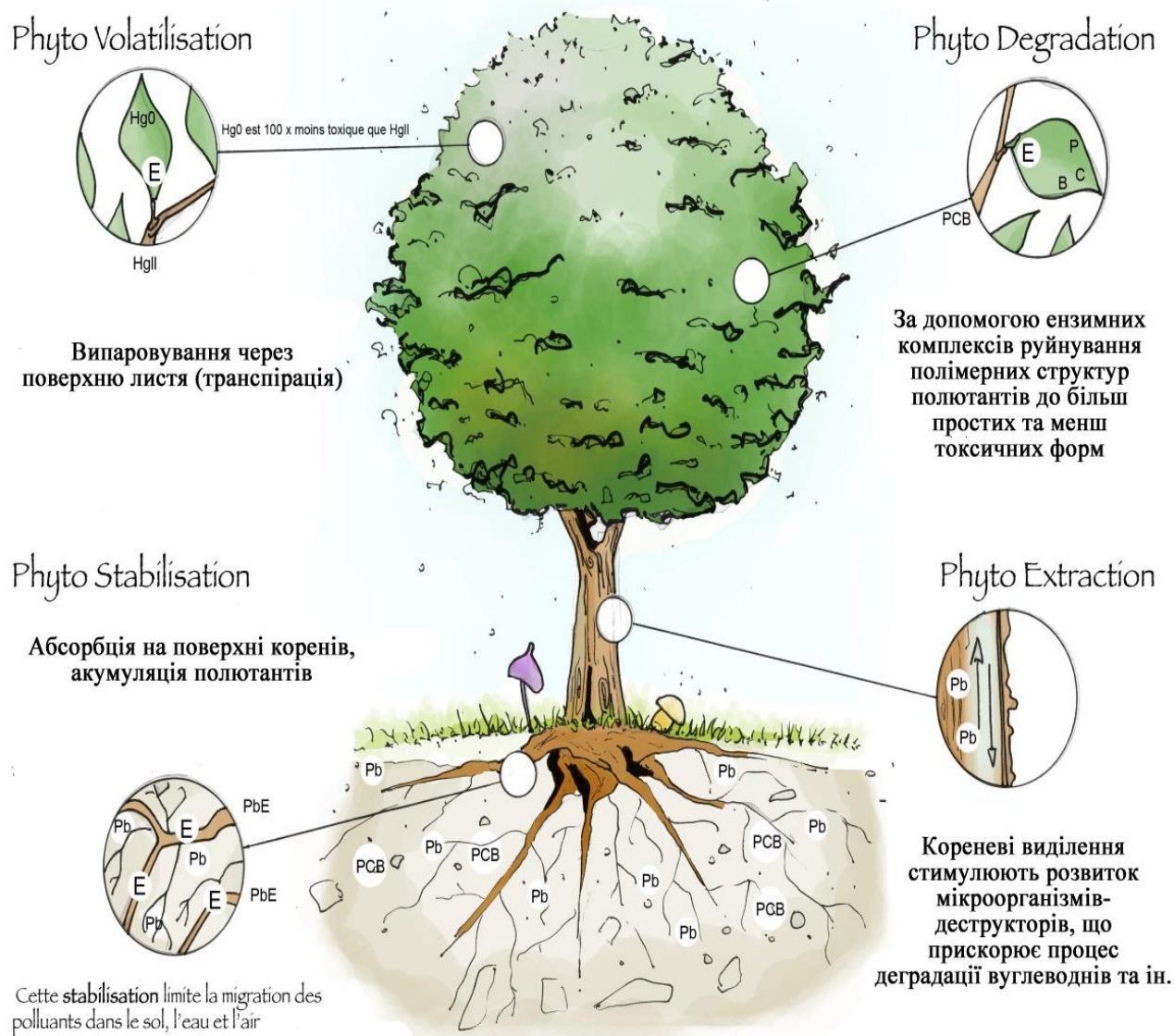


Рисунок 2.6 – Процеси впливу рослин на поллютантів

Важливу роль у деградації забруднень відіграють мікроорганізми. Рослина є свого роду біофільтром, створюючи для них місце існування (забезпечення доступу кисню, розпушування

грунту). У зв'язку з цим процес очищення відбувається також поза періодом вегетації (в нелітній період) із дещо зниженою активністю.

Нині проводять активні дослідження гіперакумуляторів. Одним із найперспективніших є технічні коноплі.

Причинами, за якими рослина перевершує інші фітореemedіатори, є:

- *Cannabis sativa* швидко росте, досягаючи повної зрілості за 100–180 днів;

- розвиває широку кореневу систему, що поширюється на 1,5–2 метри в землю. На цій глибині коноплі повністю витягують токсичні речовини без необхідності додаткової рекультивації ґрунту;

- можливість конопель рости незалежно від наявності в ґрунті токсинів;

- здатність зв'язувати небезпечні речовини, що перебувають у повітрі та ґрунті. Фактично hemp видаляє вуглекислий газ із повітря так само, як рослина абсорбує в собі важкі метали та інші забруднювачі ґрунту.

Переваги фітореemedіації порівняно з традиційними методами:

- можливість проведення реemedіації *in situ*;

- відносно низька собівартість робіт, що проводяться, порівняно з традиційними очисними спорудами;

- метод безпечний для довкілля;

- теоретична можливість екстракції цінних речовин із зеленої маси рослин (Ni, Au, Cu);

- можливість моніторингу процесу очищення;

– рівень очищення не поступається традиційним методам, особливо за невеликого об'єму стічних вод (наприклад, у селах).

Один із ключових моментів фітореMediaції – оптимальний склад толерантних видів рослин, здатних не лише вижити в умовах забруднень, а й трансформувати і знешкодити їх. Вибір рослин для цієї технології визначається їх здатністю виносити на поверхню ґрунтові води за рахунок евапотранспірації розщеплювати забруднювальні сполуки за допомогою своїх ферментів і накопичувати ці сполуки в біомасі.

Ефективність фітореMediaції ґрунтів залежить від продуктивності рослин. Із більшою біомасою з ґрунту видаляється більша кількість полютантів, що надійшли до рослини. Біомаса рослин гірчиці сарептської збільшувалася зі зростанням концентрації доданих $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Але, як показали результати дослідів, уже при вмісті кобальту і нікелю 10 ГДК у ґрунті у рослин гірчиці сарептської (*Brassica juncea L.*) помітніше спостерігається уповільнення зростання, на великих концентраціях (15 ГДК) рослини пригнічені і не досягають необхідної біомаси.

Зміна маси коренів за варіантами при забрудненні кобальтом відбувалася також по-різному, залежно від дози забрудника. У рослин гірчиці сарептської подібно до маси надземної частини спостерігалось достовірне збільшення (на 16 % порівняно з контролем, $P \leq 0,05$) маси коренів при середньому рівні забруднення, при підвищенні рівня забруднення відбувалося її зниження, особливо цей негативний ефект (на 88 % порівняно з контролем) був виражений при внесенні кобальту в ґрунт дозами 10 і 15 ГДК.

Подібні результати спостерігалися й під час забруднення ґрунту нікелем.

Найважливішими компонентами технології відновлення забрудненого хлороорганічними пестицидами ґрунту за допомогою рослин є фітоекстракція і фітостабілізація. Фітоекстракційний потенціал рослинного організму залежить від гідрофобності забрудника. Ступінь гідрофобності багато в чому зумовлює ефективність поглинання і пересування забрудника в рослинах. До токсикантів відносять стійкі органічні пестициди, такі як трихлорметили (*n*-хлорфеніл), метан (ДДТ) і гексахлорциклогексан (ГХЦГ). У ґрунті вони зв'язуються з органічними або неорганічними сполуками (хелатують), стають ізольованими в межах природних твердих частинок ґрунту, що знижує біодоступність флори.

Для підвищення ефективності фіторементації пропонується застосовувати речовини, що стимулюють ріст рослин, підвищують рухливість гідрофобних забрудників і збільшують швидкість їх потрапляння в рослини. У зв'язку з цим були синтезовані гетероциклічні сполуки оксанового ряду, що потенційно мають біологічну активність.

Процес поглинання певними рослинами органічних залишків та інших забруднень, що містяться в стічних водах, характерний для природних біосистем. До найбільш відомих рослин, що очищають воду в природних умовах у водних об'єктах (болотах, ставках і озерах), відносять: ряску, водяний шпинат, вольфію, багатокорінник. Під час очищення стічних вод найчастіше використовують такі види вищих водяних рослин (ВВР), як комиш, очерет озерний, рогіз

вузьколистий і широколистий, рдесник гребінчастий і кучерявий, спіродела багатокоренева, елодея, півники жовті, сусак, стрілиця звичайна, гречка земноводна, гусимець морський, водопериця, хара, ірис та ін.

Відомий спосіб фіторемедіації для видалення металів із ґрунтів за рахунок акумуляції металів рослинами, який є альтернативою існуючим методам відновлення ґрунтів (екскавація, промивання), зокрема внаслідок малих витрат. Особливо це важливо для збіднених на рослинність гірських районів, оскільки при цьому покращується ландшафт.

Різні види вищої водної рослинності збагачують воду киснем, одержаним у результаті біосинтезу, а токсичні домішки розщеплюють на складові хімічні елементи. Таким чином, відбувається детоксикація стічних вод. Цей метод очищення за допомогою вищої водної рослинності реалізується в системах біоплато.

2.5.2. Технологія біоплато

Біоплато – це інженерна споруда, яку використовують для очищення та доочищення господарсько-побутових, виробничих стічних вод і забрудненого поверхневого стоку, що не вимагає (чи майже не вимагає) витрат електроенергії та використання хімічних реагентів при незначному експлуатаційному обслуговуванні.

Основою технології є природні процеси самоочищення, властиві водним і навколоводним екосистемам. Принцип технології «біоплато» полягає у використанні ВВР (рис. 2.7). Під час очищення стічних вод

використовують такі види ВВР, як комиш, очерет озерний, рогіз вузьколистий і широколистий, рдесник гребінчастий і кучерявий, спіродела багатокоренева, елодея, водяний гіацинт (ейхорнія), ірис та ін.

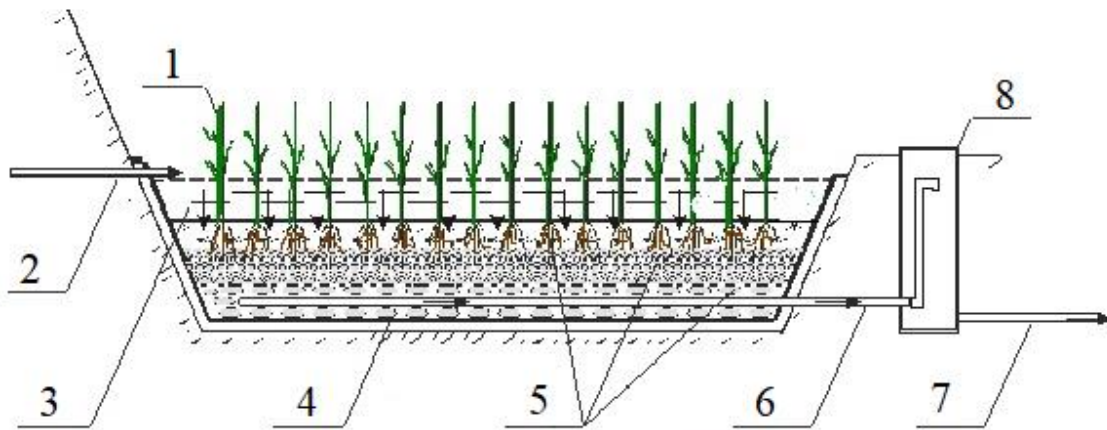


Рисунок 2.7 – Схема вертикального біоплато (за Ф.В. Стольберг та ін., 2003): 1- рослинність; 2 – розподілюючий колектор; 3 – водна товща; 4 – протифільтраційний екран; 5 – фільтруючий шар (щебень, пісок тощо); 6 – дренажний колектор; 7 – вихід; 8 – колодязь з регулюючим пристроєм

Вищі водні рослини, такі як комиш, очерет, рогіз, мають здатність видаляти з води забруднювальні речовини: біогенні елементи (азот, фосфор, калій, кальцій, магній, марганець, сірку), важкі метали (кадмій, мідь, свинець, цинк), феноли, сульфати, нафтопродукти, синтетичні поверхнево-активні речовини (СПАР), і покращувати такі показники органічного забруднення середовища, як біологічне споживання кисню (БСК) і хімічне споживання кисню (ХСК). Наприклад, коренева система рогозу має високу акумулювальну здатність стосовно важких металів. Концентрація металів у кореневій системі рогозу, який ріс на берегах

шламонакопичувачів електростанцій, досягала (мг/кг): заліза – 199,1; марганцю – 159,5; міді – 3,4; цинку – 16,6. Відомо, що очерет має високі адаптивні властивості і здатний проростати в дуже забруднених промисловими стічними водами місцевостях. Він видаляє з води ряд органічних сполук, зокрема феноли, нафтоли, аніліни та інші органічні речовини. Питоме поглинання мінеральних речовин очеретом досягає (1 г на 1 г сухої маси): кальцію – 3,95; калію – 10,3; натрію – 6,3; кремнію – 12,6; цинку – 50; марганцю – 1 200; бору – 14,6.

Біоплато з ВВР відрізняються значною окиснювальною здатністю завдяки створенню біоплівки гідробіонтів (перифітону) на поверхні інертного субстрату та зануреної частини кореневищ і стебел ВВР, які симбіотично взаємодіють. Частина біоценозу мікроорганізмів перебуває у завислому стані у вигляді пластівців, а також утворює шар природних відкладень – бентос, в якому проходить активний процес анаеробного розкладання органічних забруднень. Значну роль у процесах доочищення відіграють сапрофітні бактерії, які водночас із ВВР успішно виконують функцію дезінфектантів за рахунок своїх продуктів обміну та антагонізму з бактеріями-гетеротрофами, що в ряді випадків дозволяє уникнути використання систем хлорування або озонування води. Очисні споруди за технологією біоплато складаються зазвичай із декількох блоків, розміщених каскадом, причому блок поверхневого біоплато є кінцевим. До складу споруджень біоплато як кінцевого може входити болотиста ділянка (природне поверхнєве біоплато) з наявністю достатніх заростей вищої водної рослинності. Початковим блоком

споруд є відстійник, де відбувається видалення великих включень і завислих речовин. До чинників, що найбільше впливають на ефективність очищення, відносять: температуру води та повітря, рН і Eh середовища, період року, гідравлічне навантаження на споруди, аерацію, початкову концентрацію забруднювальних речовин води, що подається на очищення. Очищена вода зливається у водойму. Якість водойм після очищення практично за всіма нормованими показниками відповідає нормативним вимогам для комунально-побутової категорії водокористування.

Розглянемо декілька прикладів успішного використання рослин для очищення стічних вод.

У Норвегії 40 км на південь від Осло для очищення сільськогосподарського поверхневого стоку побудовано експериментальне біоплато, основою якого є фільтр, сконструйований із 8 паралельних смуг (кожна розміром 3×40 м) глибиною 0,5 м, площею 1 200 м². Площа водозбору становить 0,8 км². Попередні дослідження показали значну ефективність видалення завислих речовин – 45–75 %, фосфору – 21–44 %, азоту – 15 %. На сьогодні дослідження тривають.

Також важливо зазначити, що рослинність можна розглядати як своєрідний тест-об'єкт під час оцінювання рівнів забруднення компонентів довкілля, зокрема, атмосферного повітря, підземних і поверхневих водоносних горизонтів у районах відкритого добування нерудних корисних копалини. Стійкість біогеоценозів багато в чому залежить від живої речовини, здатності біоти протистояти впливу зовнішніх чинників, її уразливості та можливості відновлення в

певних умовах. Саме тому індикатором зміни стану біогеоценозу є фітоценоз, що забезпечує фіксацію енергії, кругообіг речовин, чутливо реагує на зміну зовнішніх чинників і добре відбиває ці зміни візуально.

В Україні використання ВВР на різних типах біоплато, які не вимагають (чи майже не вимагають) витрат електроенергії і використання хімічних реагентів при незначному періодичному експлуатаційному обслуговуванні, почалося ще в минулому столітті. В Інституті гідробіології НАНУ (м. Київ) було запропоновано й досліджено використання біоплато як спорудження доочищення води в каналах, по яких транспортується вода з Дніпра для водозабезпечення таких регіонів, як Крим, Донбас, а також в інших галузях. Широке вивчення і впровадження біоінженерних споруд із використанням ВВР виконується в Інституті екологічних проблем (м. Харків). Так, із 1997 року комплекс споруджень біоплато працює в селищі Великі Проходи Дергачівського району Харківської області, де технологію застосовують для очищення стічних вод селища. Продуктивність цих очисних споруд становить 40 м³/добу.

Окрім водоочищення, біоплато подібно до інших екосистем виконують і ряд екологічних функцій – гідролітичних, біологічних, біогеохімічних. Будучи високопродуктивними системами, вони сприяють підтриманню ландшафтної та екосистемної різноманітності, збереженню достатку форм життя, створенню місць існування для різних видів флори і фауни.

На жаль, систематизованих даних про очищення рослинами поверхневих стічних вод під впливом різних зовнішніх чинників

дуже мало. У науковій літературі відсутні дані не лише про динаміку очищення, а й вплив на очищення різних хімічних сполук, температури середовища, освітленості та інших чинників. Це не дозволяє надійно розраховувати очисні споруди, використовуючи ВВР як одного з їх елементів. Крім того, вимагає дослідження питання створення найбільш сприятливих умов життєдіяльності рослин, що повинне забезпечуватися відповідними інженерними рішеннями. При цьому потрібно враховувати як природні чинники (зміни температури, освітленості та ін.), так і умови роботи очисних споруд (зміни витрати стоків, концентрацій і т. п.).

На завершення потрібно відзначити, що в біологічних системах дуже важливими є симбіотичні відношення між різними групами організмів – прокариотів та еукаріотів. Ці взаємовідношення в екологічній біотехнології майбутнього, на наш погляд, відкриють спектр різних можливостей для створення стійких саморегульовальних біологічних систем у рамках технологій захисту довкілля.

2.6. Екологічні аспекти використання біокультур мікроводоростей

В умовах інтенсифікації сільськогосподарського виробництва і різкого підвищення антропогенної дії на довкілля, зокрема й на ґрунтовий покрив, значною мірою зростає роль біологічних чинників підвищення родючості ґрунтів та їх рекультивації. Дуже допомагає в цьому вміле використання і регулювання розвитку ґрунтової біоти, сталою та істотною складовою якої є водорості.

Мікродорості успішно використовують для підвищення родючості ґрунтів, тобто для поповнення запасів органічних речовин (типу гумінових кислот), що сприяє підвищенню врожайності сільськогосподарських культур. Із цією метою застосовують зелені та синьо-зелені мікродорості. Очевидно, що застосування мікродоростей як біодобрива є економічно вигідним і безпечнішим для довкілля порівняно з хімічними добривами.

Ґрунтові водорості можуть також бути індикаторами стану ґрунтів. Численні дані свідчать про те, що водорості відіграють роль тест-об'єктів як під час визначення потреби ґрунту в добривах, так і при випробуванні різних пестицидів, наприклад для оцінювання залишкової токсичності гербіцидів у ґрунті. Мікродорості можуть бути використані для вивчення механізму дії різних гербіцидів, а також як модельні об'єкти при вивченні фітотоксичних хімічних сполук та ідентифікації їх структури. Вони відіграють особливо важливу роль у біологічному очищенні вод. З урахуванням економічної ефективності найбільш перспективним вважають використання водоростей для очищення стічних вод підприємств харчової промисловості, рибоводних господарств, тваринницьких ферм, птахофабрик. Вони як фототрофні організми збагачують водне середовище киснем, сприяючи тим самим прискоренню окиснювальних процесів і мінералізації органічних домішок у стічних водах. Одним із найбільш ефективних способів очищення води є біофлокуляція.

Суть розроблення полягає в застосуванні спеціально вирощеної біокультури для оздоровлення водних екосистем. На відміну від

відомих методик застосовують мікроводорості, що перебувають у неактивному стані, оскільки як флокулянт використовують фізико-хімічні властивості біомаси.

Водорості – одне з найбагатших джерел для виробництва біопалива. Вихід олії з водоростей становить близько 50 %, що істотно більше, ніж у рапсі. Переваги отримання біодизельного палива з водоростей – висока швидкість зростання і, отже, високий вихід на 1 га площі; крім того, біопаливо, яке отримують із водоростей, не містить сірки, нетоксичне і добре піддається біорозкладанню.

2.7. Санітарно-гігієнічне оцінювання біологічного об'єкта

2.7.1. Комплексне оцінювання промислових штамів

Вивчення штамів-продуцентів передбачає вивчення їх мікробіологічних, технологічних, санітарно-гігієнічних та екологічних властивостей.

На етапі мікробіологічних досліджень (етап 1) визначають таксономічне положення штаму, розробляють методи його ідентифікації в промисловому процесі та довкіллі, визначають умови його домінування в разі незахищених умов культивування.

Вивчення технологічних властивостей штаму (етап 2) спрямоване на визначення його промислово-цінних властивостей.

Під час санітарно-гігієнічних досліджень (етап 3) визначаються патогенність штаму, його вірулентність, ГДК аерозоля живих та інактивованих клітин у повітрі робочої зони і в атмосферному повітрі.

Екологотоксикологічні дослідження (етап 4) передбачають визначення приживаності клітин продуцента в екосистемах, вивчення їх впливу на біоценоз екосистем – визначення гранично допустимого екологічного навантаження.

Гігієнічне нормування мікроорганізмів-продуцентів і готових форм препаратів, що утримують їх, в об'єктах виробничого та навколишнього середовища істотно відрізняється від обґрунтування санітарних стандартів хімічних речовин, зокрема й продуктів мікробіологічного синтезу. Концепція визначення ГДК хімічних речовин неповною мірою застосована до мікробного забруднення через принципові відмінності між хімічним і мікробним забрудненням.

Принципи визначення ГДК хімічних речовин ґрунтуються на принципі пороговості. Поняття порога для багатьох біологічних агентів відсутнє. Є труднощі з кількісним оцінюванням небезпеки наявності біологічного чинника в довкіллі, оскільки потрапляння в сприйнятливий організм навіть декількох живих мікробних клітин патогенного мікроорганізму (наприклад, під час проведення робіт з ідентифікації штамів або пов'язаних з отриманням вакцин) може бути достатнім для виникнення захворювання з будь-якою клінічною картиною і результатом.

2.7.2. Обґрунтування ГДК живих клітин мікроорганізмів у повітрі робочої зони та атмосферному повітрі

Схема проведення досліджень з обґрунтування ГДК мікроорганізмів-продуцентів у повітрі робочої зони й атмосферному передбачає декілька етапів. На першому етапі виявляються ознаки патогенності об'єкта, визначаються вірулентність за величиною LD₅₀, токсичність і токсигенність (рис. 2.8).

На другому етапі оцінюється небезпека мікроорганізму, що вивчається, при надходженні в організм лабораторних тварин шляхами, адекватними реальним умовам трудової діяльності та життя людини, з метою вибору лімітувального критерію шкідливості (імунотоксичного, дисбіотичного або за дисемінацією мікроба у внутрішніх органах). Унаслідок проведених досліджень обґрунтовується величина ГДК.

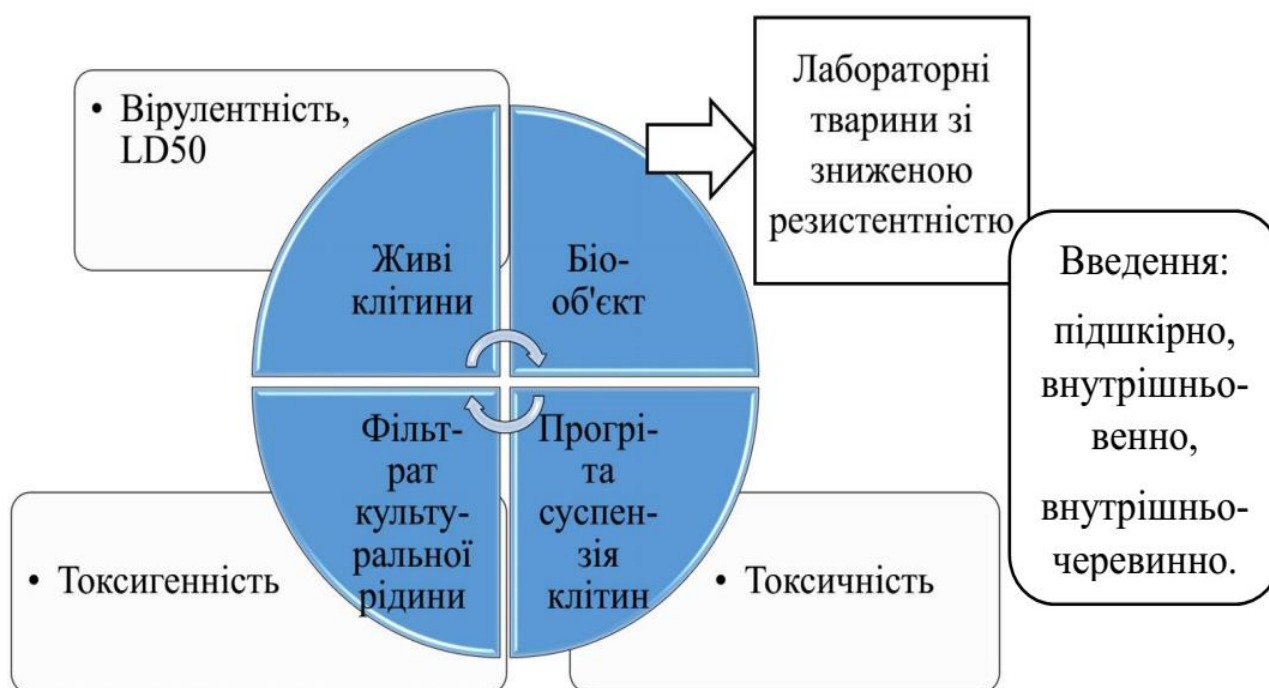


Рисунок 2.8 – Схема гігієнічної характеристики властивостей промислових штамів

Критеріями високої небезпеки штаму (1-й клас небезпеки) є:

– величина LD₅₀ при введенні мікроорганізму в шлунок мишей менше ніж 107, а при внутрішньоочеревинному – менше ніж 105 клітин на одну тварину;

– виражена токсичність – величина LD₅₀ при введенні убитої нагріванням культури менше ніж 106 клітин на одну тварину;

– виражена токсигенність – величина LD₅₀ при внутрішньоочеревинному введенні фільтрату менше ніж 0,5 мл на одну тварину.

Якщо загибелі тварин не спостерігається, то для достовірності оцінювання ступеня патогенності штамів визначається вірулентність на групі ослаблених тварин із використанням експериментальних навантажень.

Невірулентні штами досліджують на можливість носійства. Це визначається шляхом інкубації посівів упродовж 30 діб зі шкірних покривів, слизових оболонок, крові, печінки, нирок експериментальних тварин. За позитивних результатів штам не рекомендують для використання.

При обґрунтуванні ГДК готових форм препаратів, що містять живі мікроорганізми або спори, на додаток до описаних досліджень оцінюється подразлива дія препарату на шкіру, визначається поріг гострої та хронічної загальнотоксичної дії.

На підставі одержаних даних виявляється лімітувальний показник шкідливості, покладений в основу гігієнічного нормування цих штамів і продуктів.

Масштабні дослідження промислових непатогенних штамів і продуктів, які становлять біомасу їх інактивованих клітин, показали, що основою проявів несприятливої їх дії на макроорганізм є можливість сенсibilізації організму.

Сенсibilізація як стан підвищеної чутливості розвивається у деяких людей у відповідь на повторне введення алергенів і залежить від характеру і властивостей алергену, його кількості, шляху проникнення та особливостей реактивності макроорганізму.

Виявлення сенсibilізувальної дії мікроорганізмів штамів-продуцентів проводиться з живою культурою.

Під час оцінювання готових форм препаратів для сенсibilізації тварин застосовують суспензію препаратів (ураховують при цьому також ефект наповнювача або добавок, або розчини хімічних сполук, що входять до препарату), а також використовують живу культуру (враховують ефект дії штаму-продуцента).

Сенсibilізувальна дія визначається відтворенням алергії при повторному введенні алергену.

Миші (10–20 особин) сенсibilізуються інтраназально або ентеральною суспензією клітин мікроорганізмів у концентрації на порядок нижче від LD₅₀. Через 5 діб тварини досліджуваної групи тестуються шляхом уведення в задню лапку 0,05 мл суспензії досліджуваного мікроорганізму в тій самій концентрації, що й при сенсibilізації.

Через одну добу визначається різниця набряку двох задніх лапок досліджуваних і контрольних груп тварин.

При визначенні сенсibiliзувальної дії готової форми препарату для сенсibiliзації тварин використовують інтраназальне або ентеральне введення препарату в концентрації на порядок нижче від величини LD₅₀, а також інгаляційну дію з концентраціями, вибраними для визначення Limac (порога гострої дії).

Тестування проводять методом повторного введення препарату.

Для встановлення порога хронічної загальнотоксичної дії (LimCh) тварин, сенсibiliзованих суспензією мікроорганізму, що вивчається, піддають упродовж 4 місяців у спеціальних камерах інгаляційній дії аерозолем, що містить клітини цього самого мікроорганізму. Щоденна експозиція при встановленні ГДК у повітрі робочої зони – 4 години, а для ГДК в атмосферному повітрі – цілодобово.

Поріг імунотоксичної дії визначають на підставі дослідження можливої появи у тварин таких ефектів: сенсibiliзації, імунізації (ознака антигенності мікроорганізму) та неспецифічної імуномодуляції (стимуляція та імунодефіцит) організму. Визначення порога дисемінації мікроорганізмів у внутрішніх органах здійснюють у кінці хронічного експерименту за два тижні після його закінчення (період відновлення). Для цього проводять посів крові і використовують метод відбитків легенів, серця, печінки, селезінки і нирок на агаризоване селективне середовище. За порогову беруть мінімальну дозу або концентрацію, за якої через 2 тижні після закінчення хронічного експерименту досліджуваний мікроорганізм висівається з внутрішніх органів або в них виявляються патоморфологічні зміни.

Клас небезпеки мікроорганізмів установлюють згідно з таблицею 2.1 і ставлять позначку «А» (алерген), якщо при нормуванні лімітувальною ознакою є сенсibiliзувальна дія.

Таблиця 2.1 – Класифікація штамів мікроорганізмів за ступенем небезпеки

Найменування показника	Одиниця вимірювання	Норма для класу небезпеки			
		1-го	2-го	3-го	4-го
Середня вірулентна доза: – під час уведення в шлунок; – під час уведення в очеревину	кл/тварину	до 10^7 до 10^5	10^7 – 10^9 10^5 – 10^7	10^9 – 10^{11} 10^7 – 10^9	більше ніж 10^{11} більше ніж 10^9
Середня алергічна доза за сенсibiliзувальним ефектом	кл/м ³	до 10^2	10^2 – 10^3	10^3 – 10^4	більше ніж 10^4
Поріг алергенної інгаляційної дії	кл/м ³	до 10^2	10^3 – 10^4	10^4 – 10^5	більше ніж 10^5
Поріг хронічної інгаляційної дії	кл/м ³	до $3 \cdot 10^3$ $3 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$ – $3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$ – $3 \cdot 10^5$	більше ніж $3 \cdot 10^5$
ГДК штамів мікробів: – у повітрі робочої зони; – в атмосферному повітрі	кл/м ³	до 200 до 20	200– 2 000 20–200	2 000– 20 000 200– 1 000	більше ніж 20 000 до 2 000

Класи небезпеки мікробіологічних об'єктів такі:

1-й клас – надзвичайно небезпечні мікроорганізми, мають виражену загальнотоксичну та алергенну дію;

2-й клас – високонебезпечні, можуть чинити сильну алергенну й загальнотоксичну дію;

3-й клас – помірні, мають слабку загальнотоксичну та алергенну дію;

4-й клас – малонебезпечні, практично не мають алергенної і загальнотоксичної дії.

Мікроорганізми-продуценти і готові продукти на їх основі, віднесені до 1-го класу небезпеки, не дозволяються для використання у виробництві.

Величину ГДК установлюють виходячи з лімітувального порога хронічної дії мікроорганізму (імунотоксичного, дисбіотичного та дисемінації у внутрішніх органах). Коефіцієнт запасу при визначенні ГДК у повітрі робочої зони – 10, а при визначенні ГДК в атмосферному повітрі – 100.

Усі промислові штами, дозволені до застосування, відносять до непатогенних або умовно-патогенних (окрім штамів, використовуваних для отримання вакцин). Відповідно до нормативно-технічної документації їх відносять до 3-го класу небезпеки (помірний індивідуальний ризик та обмежений ризик для населення в цілому). Такі мікроорганізми при порушенні ведення технологічного процесу, санітарно-гігієнічних умов праці можуть несприятливо впливати на організм працівників і призводити до мікробоносійства та алергії.

Окрім класу небезпеки і ГДК тих чи інших забруднень, для оцінювання їх дії на організм людини встановлюються також і інші показники:

– величина перевищення допустимої добової дози (ДДД) надходження поллютанта в організм від максимально допустимого рівня (мг/кг маси тіла);

– орієнтовно-допустимий рівень чинника дії (ОДР) у воді водойм (мг/дм³);

– орієнтовно-безпечний рівень чинника дії в повітрі робочої зони і в повітрі атмосфери (мг/м³);

– орієнтовно-допустима кількість чинника дії (ОДР) в ґрунті (мг/кг).

Оскільки окремі патогенні штами виявляються серед непатогенних дріжджів одного й того самого виду, теоретично можливим є спонтанне витіснення промислового непатогенного штаму іншим вірулентним штамом. Велике значення для забезпечення безпечних умов праці персоналу має проведення регулярного мікробіологічного контролю технологічного процесу з метою забезпечення домінування виробничих штамів продуцентів у цих процесах.

РОЗДІЛ 3 СУБСТРАТИ ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЙ

3.1. Відходи як субстрат

Субстрати та середовища, використовувані в екологічній біотехнології, дуже різні, їх спектр безперервно розширюється (табл. 3.1).

Із розвитком промислових процесів відбувається накопичення нових видів відходів, що можуть бути знешкодженими та конвертованими в корисні продукти методами біотехнології. З одного боку, біотехнологічні промислові напрямки, що розвиваються бурхливими темпами, стикаються з проблемою вичерпання традиційних видів сировини, тому виникає необхідність у розширенні сировинної бази, з іншого – збільшення обсягів відходів, що накопичуються, робить необхідним розроблення нетрадиційних, зокрема біотехнологічних способів їх перероблення.

Таблиця 3.1 – Групи субстратів, біологічних агентів і утворених у біотехнологічних процесах продуктів

Субстрат	Біологічний агент	Продукт
1	2	3
Гідрол, гідролізати деревних відходів. Барда. Парафіни нафти. ПАР. Напівпродукти: попередники біотрансформацій	Мікроорганізми, рослинні та тваринні клітини. Позаклітинні продукти: ферменти, коферменти. Імобілізовані клітини мікроорганізмів і рослин	Біодобрива та біоінсектециди, мікробні біомаси, вакцини. Медикаменти. Гормони. Полісахариди. Білок одноклітинних

Продовження таблиці 3.1

1	2	3
Молочна сироватка. Зелена біомаса рослин. Відходи с/г та лісової промисловості. Побутові відходи, стічні води. Осади міських стічних вод. Відходи перероблення овочів та фруктів. Відходи металургійної, хімічної промисловості. Сульфітний луг	Угруповання мікроорганізмів	Органічні кислоти. Харчові продукти. Антибіотики. Амінокислоти. Спирти, органічні розчинники. Ферменти, вітаміни. Біогаз, органічне добриво Метали, неметали. Елементарна сірка. Кормові дріжджі

Таким чином, у процесах екологічної біотехнології субстратом для розвитку біооб'єктів насамперед стають відходи виробництва та споживання, що є вторинною сировинною базою і об'єктом перероблення. Ця тенденція ґрунтується на реалізації принципів маловідхідності в аспекті екологізації технологічних процесів.

3.2. Принципи приготування живильних середовищ для штамів-інокулянтів

Усі живі клітини потребують екзогенних джерел живлення, що містяться в живильних середовищах. Живильне середовище забезпечує життєдіяльність, ріст і розвиток біологічного агента, який у подальшому може використовуватися як закваска (інокулянт) для

інтенсифікації процесу оброблення, утилізації або знешкодження відходів.

Інокуляція – введення живих організмів у різні середовища. Постійним компонентом живильних середовищ є вода, якої потребують усі живі клітини. Постачання клітин киснем і воднем здійснюється за рахунок води. Поживні речовини утворюють у воді справжні (мінеральні солі, цукри, амінокислоти, карбонові кислоти, спирти, альдегіди) або колоїдні (білки, ліпіди, неорганічні сполуки) розчини. Деякі компоненти живильних середовищ, що перебувають у твердому агрегатному стані, можуть або утворювати придонний осад, або рівномірно розподілятися за всім об'ємом у вигляді суспензії, або плавати на поверхні розчину (частинки вугілля). Рідкі вуглеводні при внесенні у воду утворюють фракцію, що не змішується.

У живильному середовищі повинні бути наявними всі елементи, необхідні для побудови компонентів живих клітин у доступній для засвоєння формі. *Мінеральні елементи*, що входять до складу живильних середовищ і необхідні для росту біологічних агентів, підрозділяють на макро- і мікроелементи. Їх концентрація в середовищі залежно від біології використовуваного біооб'єкта та завдань біотехнологічного процесу різна. Серед *макроелементів* перше місце займає азот, оскільки потреби біологічних об'єктів у ньому на порядок перевищують потреби в інших елементах (фосфорі, сірці, калії та магнії). Так, концентрація макроелементів у середовищі (K, Mg, P, S) зазвичай становить близько 10^{-3} – 10^{-4} М. Для цього як їх джерела використовують солі (сульфати або фосфати амонію). Концентрація калію мало змінюється під час росту. Як правило,

достатньо К, внесеного з фосфатами. Як уже згадувалося, концентрації фосфатів у лабораторних середовищах визначають не стільки потребами організму, скільки підтриманням рН. Для зростання цілком достатньо 100 мг/л фосфату калію, щоб культура перебувала на плато навіть за високої щільності.

Азотистим субстратом для виготовлення живильних середовищ є в основному білки тваринного та рослинного походження. Важливо відзначити, що за джерелами азоту організми різко відрізняються. Існує три основні форми джерел зв'язаного азоту: солі амонію, нітрати, органічний азот, що може бути або в складі дріжджового екстракту, або у вигляді глутамату, глутаміну, аспартату, аспарагіну, сечовини. Для анаеробів краще застосовувати солі амонію, для аеробів – нітрати.

Істотне значення при забезпеченні азотного харчування продуцента має не лише вид, а й концентрація азоту в середовищі, оскільки зміна співвідношення С:N, впливаючи на швидкість росту продуцента, метаболізм, спричиняє надсинтез ряду цільових продуктів (амінокислот, полісахаридів та ін.).

Потреби в *мікроелементах* невеликі, але їх концентрація в середовищах істотно нижча – 10^{-6} – 10^{-8} М. Тому мікроелементи часто навмисно не вносять у середовище, оскільки їх домішки в основних солях і воді забезпечують потреби продуцентів. Проблема з мікроелементами полягає в тому, щоб утримати їх у розчині за даного рН. Зазвичай це досягається застосуванням комплексоутворювачів – нітрилтриоцтової кислоти, або ЕДТА (комплексона). Для заліза, якого потрібно відносно багато, застосовують цитрат заліза. Перелічені

вище мікроелементи пов'язані з певними функціями в клітині. Кобальт бере участь у реакціях вітаміну В12, молібден – в обміні азоту, мідь – у ряді окиснювальних ферментів, нікель – у гідрогенезі й т. д. Відсутність або нестача цих мікроелементів у середовищі призводить до селективного росту інших організмів.

Крім основних енергетичних і пластичних компонентів, живильні середовища можуть містити так звані *фактори росту*. Це органічні сполуки (вітаміни, амінокислоти, пуринові й піримідинові основи та ін.), яких потребують ауксотрофні клітини, але синтезувати їх не можуть. Відсутність таких речовин призводить до порушення обмінних процесів і припинення росту клітин. Крім чистих індивідуальних речовин такої природи, як ростові добавки, на практиці часто використовують кукурудзяний або дріжджовий екстракт, картопляний сік, екстракт проростків ячменю, зернових відходів і відходів молочної промисловості. Стимулювальна дія цих ростових факторів багато в чому залежить від індивідуальних властивостей застосовуваного продуцента, складу основного середовища, умов ферментації та ін. Додавання ростових факторів здатне збільшити вихід цільового продукту, наприклад ферментів, у десятки разів. За необхідні компоненти живильних середовищ можуть бути гази: добре (NH_3 , H_2S), помірно (CO_2) або погано (N_2 , O_2 , H_2 , CH_4) розчинні у воді.

Вуглець є складовою частиною всіх органічних сполук і його *джерела* численні та різноманітні: найчастіше цукри, багатоатомні спирти й органічні кислоти.

Живильні середовища можуть мати невизначений склад, тобто містити біогенні добавки (рослинного, тваринного або мікробного походження), наприклад, м'ясний екстракт, дріжджовий екстракт, кукурудзяну муку, морські водорості та ін. Такі живильні середовища називають *натуральними*. На цей час спостерігають зростання зацікавленості біотехнологів до природних відновлюваних ресурсів – продуктів фотосинтезу, біоресурсів світового океану.

Як *джерела вуглецю* й енергії в біотехнологічних процесах використовують в основному природні комплексні середовища невизначеного вмісту (відходи різних виробництв, продукти перероблення рослинної сировини, компоненти стічних вод та інших органічних відходів), в яких, окрім вуглецевих сполук, містяться також мінеральні елементи та ростові фактори. Досить широко внесені до розряду біотехнологічних субстратів целюлоза, гідролізати полісахаридів і деревини.

Застосовують також середовища, приготовані з чисто хімічних сполук у заздалегідь певних співвідношеннях. Це так звані *синтетичні середовища*. Стають поширеними і *напівсинтетичні живильні середовища*, що поєднують у своєму складі компоненти як натуральних, так і синтетичних середовищ. Середовища цих типів мають як переваги, так і недоліки. З економічної точки зору найбільш доцільним є використання природної, більш дешевої сировини, ніж речовин у чистому вигляді, одержаних хімічним шляхом. Однак лише застосування середовищ чітко визначеного складу дозволяє точно реєструвати та регулювати проходження в культуральному середовищі процесів, добиваючись їх оптимізації. Компромісним

підходом є використання напівсинтетичних середовищ, до складу яких поряд зі сполуками відомої хімічної природи входять біогенні добавки.

Традиційно склад живильного середовища, оптимального для біотехнологічного процесу, визначають методом тривалого емпіричного підбору, в ході якого на перших етапах визначають якісний і кількісний склад середовища. Було зроблено багато спроб обґрунтування складу середовищ із позицій фізіології та біохімії продуцента, але, оскільки потреби в поживних речовинах видо- і навіть штамоспецифічні, в кожному конкретному випадку доводиться підбирати оптимальний для конкретного продуцента склад середовища. За останні 20–25 років все ширше використовують математичний метод планування експериментів, математичне моделювання біотехнологічних процесів. Це дозволяє обґрунтовано підійти до конструювання живильних середовищ, зробити їх економічними.

РОЗДІЛ 4

ПРОЦЕСИ АЕРОБНОЇ ТА АНАЕРОБНОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ ВІДХОДІВ

4.1. Біохімічні процеси окиснення органічних речовин в аеробних та анаеробних умовах

Здатність бактерій використовувати в процесі своєї життєдіяльності як харчування різні органічні та мінеральні речовини стічних вод є основою процесів біологічного очищення. Бактерії мають дуже різноманітні фізіологічні можливості щодо поживних речовин і умов довкілля, що дозволяє видаляти зі стічних вод практично будь-які органічні сполуки.

У клітинах бактерій одночасно проходить безліч біохімічних реакцій. Ферменти, що прискорюють біохімічні реакції, мають високу каталітичну активність, тобто ефективно знижують енергію активації, необхідну для здійснення реакції, завдяки тому, що сприяють утворенню проміжних продуктів, які потребують меншої енергії.

Вважається, що механізм дії ферментів полягає в такому: білок ферменту зв'язується в одній або кількох точках із молекулою субстрату, утворюючи фермент-субстратний комплекс, що послабляє внутрішньомолекулярні зв'язки субстрату. Утворення комплексу теоретично обґрунтував Міхаеліс, у подальшому ця реакція була підтверджена експериментально. У результаті було одержане відоме рівняння Міхаеліса – Ментен:

$$\rho = \frac{\rho_{\max} L}{K_c + L}, \quad (4.1)$$

де ρ – питома швидкість ферментативної реакції; ρ_{\max} – максимальна швидкість реакції за відсутності лімітування субстратом; K_c – константа насичення; L – концентрація субстрату.

Швидкість ферментативної реакції зростає з підвищенням концентрації субстрату до певної межі.

Ферменти виробляються клітиною відповідно до її потреб, а їх вміст може значно коливатися. Ферменти мають високу специфічність, а їх активність залежить від різних факторів (температури, рН, складу живильного середовища, наявності токсичних речовин).

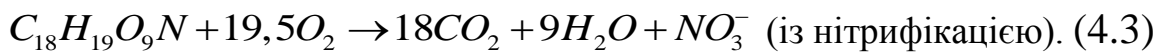
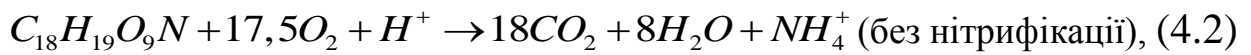
Бактеріальне розкладання органічних речовин може відбуватися в анаеробних та аеробних умовах.

Реакції аеробної конверсії органічної речовини

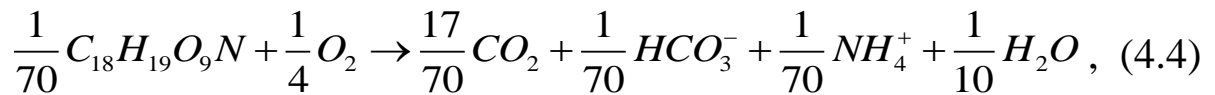
Органічні речовини в аеробних умовах можуть:

- трансформуватись у відповідні мономери (прості органічні речовини);
- окиснюватися до діоксиду вуглецю та різних мінеральних елементів;
- не зазнавати перетворення (інертні та важкорозчинні органічні речовини).

Органічна речовина в стічних водах має загальний вигляд $C_{18}H_{19}O_9N$. Якщо ця речовина окиснюється під дією мікроорганізмів до діоксиду вуглецю, то сумарну реакцію можна подати такими хімічними рівняннями:



Загальний енергетичний вихід реакції окиснення органічної речовини аеробними гетерогенними мікроорганізмами запишемо у вигляді



$$\Delta G^o (W) = -110 \text{ кДж / ел. екв.}$$

В облігатних аеробів реакції біологічного окиснення здійснюються за участі кисню з вивільненням великої кількості енергії. Так, окиснення глюкози в аеробних умовах супроводжується виділенням 688,5 ккал.

Розглянемо більш детально процеси нітрифікації та денітрифікації, що активно використовуються в екобіотехнологіях очищення стічних вод.

У побутових стічних водах азот – основна частина органічних речовин, що являють собою кінцеві продукти метаболізму азоту в організмі людини. Для протеолітичного шляху при розкладанні азотистих сполук вивільняється аміак, що може гальмувати процес аеробної деструкції. У вигляді аміаку або сечовини в побутових стічних водах наявні 80–90 % усіх азотовмісних речовин.

Амоніфікація – це бактеріальне перетворення органічних сполук азоту в неорганічні форми, основною з яких є аміак, що накопичується в процесі дезамінування внаслідок протеолізу білків рослинного і тваринного походження, здійснюваного

гетеротрофними гнильними (амоніфікувальними) бактеріями в каналізаційній мережі. Крім аміаку, в результаті амоніфікації утворюються фосфор і сірководень. Цьому процесу перешкоджають низька температура (менше ніж 10 °С), кисла рН.

На рисунку 4.1 наведена схема замкненого циклу азоту. Необхідно відзначити, що *різноманітність фізіологічних груп мікроорганізмів циклів вуглецю та азоту свідчить про те, що вони формують інтегральні потоки елементів*. Таким чином формується повний цикл перетворення органічної речовини в аеробному угрупованні.

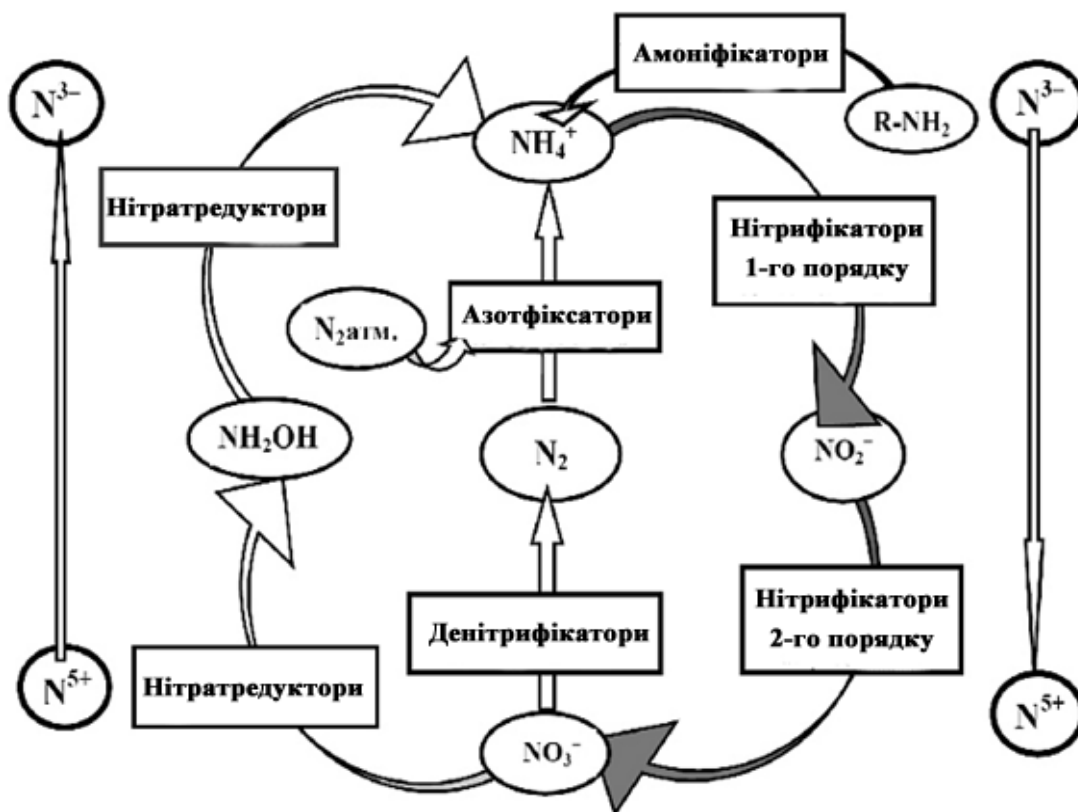


Рисунок 4.1 – Замкнений редокс-цикл азоту: фізіологічні групи мікроорганізмів (О. Б. Таширеві, 2009)

Нітрифікація – складний багатоступінчастий процес. Перша стадія нітрифікації, окиснення солей амонію в нітрити, що здійснюють нітрифікатори 1-го порядку, відбувається за рівнянням



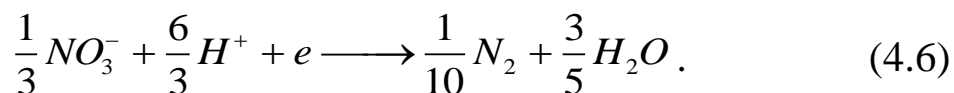
Процес нітрифікації здійснюється в результаті життєдіяльності та функціональної активності нітрифікувальних бактерій, які відносять до хемосинтезувальних автотрофів; наявність у середовищі органічних сполук пагубно відбивається на розвитку, тому нітрифікація амонійного азоту починається в аеротенках лише після практично повного окиснення вуглецевмісних сполук, що характеризуються показником БСК.

Поки є надлишок органічних речовин й інтенсивно розвиваються гетеротрофні бактерії – конкуренти нітрифікаторів за аміак у процесах конструктивного обміну, нітрифікація пригнічена. До того ж гетеротрофні бактерії посилено поглинають, як уже зазначалося, необхідний нітрифікаторам кисень. Після того як органічні речовини мінералізуються, створюються умови для розвитку бактерій – збудників першої фази нітрифікації, яку здійснюють бактерії кількох родів. Основними з них є *Nitrosomonas*, *Nitrosocystis*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*. Поява нітритів в очищених стічних водах свідчить про те, що основна частина органічних речовин вже мінералізована (виняток – процеси на полях зрошення, де вони проходять паралельно) і почалася нітрифікація.

Нітрифікатори 2-го порядку окиснюють нітрити до нітратів.

Здійснюють другу стадію нітрифікації бактерії роду *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrocystis*, *Nitrospira* (Краткий определитель бактерий Берги, 1980). Єдиним субстратом окиснення для них є нітрити. Швидкості росту бактеріальної біомаси *Nitrobacter* (утворення азоту нітратів) значно більші, ніж *Nitrosomonas* (утворення азоту нітритів). Бактерії другої стадії ще більш чутливі до несприятливих умов середовища: вмісту розчиненого кисню, рН. У кислому середовищі ці бактерії не розвиваються, оскільки недисоційована молекула азотної кислоти для них отруйна. У лужному середовищі на них негативно впливає недисоційований іон амонію. З цієї причини бактерії другої стадії нітрифікації функціонують у вузьких межах нейтральних значень рН 7,0–7,6.

Процес денітрифікації проходить за такою реакцією:



Як бачимо з рівняння, відбувається відновлення акцептора електронів (нітрату) до молекулярного азоту.

Таким чином, ми бачимо складну структуру з саморегуляцією в мікробному угрупованні аеробів, що ефективно може використовуватися в біологічних методах очищення стічних вод і в технологіях захисту довкілля в цілому.

Основними процесами, що використовуються під час біологічного очищення, є аеробні, за яких органічні речовини окислюються у кінцевому підсумку до вуглекислоти та води. Клітини одержують біологічно корисну енергію за рахунок ферментативних реакцій, у процесі яких електрони переходять з одного енергетичного

рівня на інший. Для більшості організмів кінцевим акцептором електронів є кисень. Передавання електронів кисню відбувається за участі системи перенесення електронів, що послідовно передає їх різним компонентам системи і врешті-решт приєднує до кисню, активуючи його. Активований кисень вступає в реакцію з іонізованим атомом водню, утворюючи воду або перекис водню. У процесі ферментативних реакцій енергія електронів зв'язується в макроергічних зв'язках АТФ.

Будь-яка окиснювальна реакція супроводжується реакцією відновлення. Передавання електронів через систему перенесення електронів, що відбувається шляхом ряду послідовних реакцій окиснення-відновлення, є біологічним окисненням.

Для утворення та постійного накопичення енергії в процесі окиснювального обміну в аеробних умовах надзвичайно важливим є постачання клітини киснем і його концентрація в середовищі.

Збільшити загальну швидкість окиснення органічної речовини стічних вод можна підвищенням біомаси мікроорганізмів, що беруть участь у процесі. Пропорційність між швидкістю окиснення та біомасою мікроорганізмів існує до певної межі, вища за яку питома швидкість окиснення істотно знижується за рахунок погіршення масообміну, міжвидової та внутрішньовидової конкуренції, підвищення концентрації продуктів метаболізму. У цьому разі величина інгібувального чинника пропорційна біомасі мікроорганізмів.

При внесенні поправок у рівняння Міхаеліса – Ментен (4.1), пов'язаних із впливом вмісту органічних речовин, кисню, біомаси мікроорганізмів, воно набирає вигляду

$$\rho = \rho_{\max} \frac{L_{ex} C_0}{L_{ex} - K_1 C_0 + K_0 L_{ex}} \cdot \frac{1}{1 + \phi a_i}, \quad (4.7)$$

де C_0 – концентрація розчиненого кисню; K_1 – константа, що характеризує властивості органічних речовин; K_0 – константа, що характеризує вплив кисню; ϕ – коефіцієнт інгібування продуктами розпаду активного мулу; L_{ex} – концентрація субстрату в середовищі; a_i – біомаса мікроорганізмів.

У цьому вигляді рівняння (4.7) внесене до нормативних документів (СНіП 2.03.04-85. Каналізація. Зовнішні мережі та споруди) як одна з основних розрахункових формул, що характеризують біологічну сутність процесів очищення стічних вод.

При окисненні органічної речовини частина енергії розсіюється, частина передається до того часу, поки весь вуглець органічної речовини не буде окисненим до CO_2 і води, отже, не вичерпається запас енергії органічної речовини. Кожна речовина має певний запас енергії, тобто потребує певної кількості кисню для повного окиснення. Потрібна для повного окиснення кількість кисню (БСК) є мірою кількості органічної речовини, здатної окиснюватися бактеріями в аеробних умовах. При оцінюванні ступеня розкладання органічної речовини в анаеробних умовах і визначенні ефективності роботи анаеробних споруд, де кисень не споживається, показник БСК застосовуватися не повинен.

Основна відмінність анаеробного зброджування від аеробного окиснення полягає в тому, що під час розкладання органічної речовини в анаеробних умовах акцептором електронів може бути або зв'язаний кисень органічних і неорганічних сполук (анаеробне дихання), або проміжні продукти реакції при зв'язаному окисненні-відновленні одних і тих самих молекул субстрату (бродиння), а не молекулярний кисень. В обох процесах енергія, одержувана клітиною під час розкладання органічної речовини, запасається в макроергічних зв'язках АТФ. При відщепленні від АТФ однієї грам-молекули фосфату виділяється до 42 кДж енергії, яка використовується клітиною в усіх обмінних реакціях, що вимагають витрат енергії.

Анаеробні бактерії порівняно з аеробними менш ефективно використовують енергію, одержувану при фосфорилуванні. Це обумовлює значно менший приріст біомаси мікроорганізмів у анаеробних умовах порівняно з аеробними за однакової кількості перероблених поживних речовин. Однак анаеробні процеси мають свої переваги – знезараження відходів, одержання біогазу і добрива.

Анаеробний процес відбувається трьома стадіями: стадія гідролізу полімерних сполук, стадія кислого бродіння (ацидогенезу) і стадія метаногенезу/сульфідогенезу/гомоацетатогенезу (термінальний етап).

Унаслідок гідролізу білків утворюються поліпептиди й амінокислоти, які, в кінцевому підсумку, при відщепленні від них аміногрупи перетворюються на жирні кислоти. Жири руйнуються з

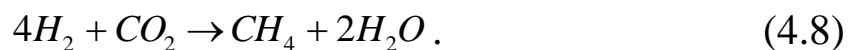
утворенням гліцерину та жирних кислот. Вуглеводи в анаеробних умовах також руйнуються до кислот жирного ряду.

Реакції анаеробної конверсії органічної речовини

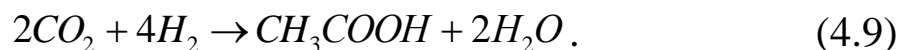
На термінальному етапі анаеробної біоконверсії відбувається ряд біохімічних реакцій, що розкривають конкуренцію між гомоацетатогенами, метаногенами та сульфатредукторами за субстрат.

До сульфідогенезу чи метаногенезу приводять два шляхи: водневий та ацетатний. Решта шляхів за важливістю вважаються другорядними. Між водневим та ацетатним шляхами обміну є місток, який реалізується групою гідрогенотрофних гомоацетатних бактерій.

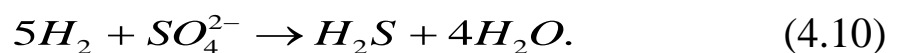
Утворення метану гідрогенотрофними метаногенами:



Утворення оцтової кислоти гомоацетогенами:

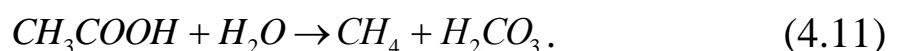


Утворення сірководню гідрогенотрофними сульфатредукторами:

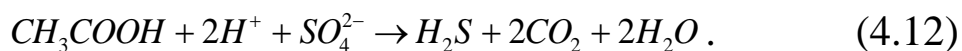


Гомоацетогени також є синтрофами щодо ацетатокластичних метаногенів та ацетатотрофних сульфатредукторів.

Утворення метану ацитокластичними метаногенами:



Утворення сірководню сульфатредукторами:



Деякі бактерії беруть участь у декількох етапах розкладання речовини: наприклад, можуть використовувати білки, а потім – вуглеводи, окиснювати спирти, а потім – альдегіди, елементарний, а потім – пов'язаний азот і т. д. Але деякі бактерії можуть споживати лише певні речовини, не використовуючи інші. Одні види бактерій можуть проводити окиснення органічної речовини до кінця – до утворення вуглекислого газу і води, інші – до проміжних продуктів, що, у свою чергу, можуть бути джерелом для інших видів бактерій. Тому під час очищення стічних вод, що містять різноманітні органічні та мінеральні речовини, використовують лише змішану культуру бактерій, яка має широкий спектр фізіологічних можливостей і стійкість до впливу зовнішніх факторів.

4.2. Теплові процеси аеробного й анаеробного очищення густих і рідких органічних відходів

Цікавість до проблем виділення тепла в процесі ферментації пов'язана передусім із необхідністю його відведення охолоджувальною водою, а також із можливістю використання інтенсивності тепловиділення як індикатора метаболічної діяльності продуцента, обігрівання ферментаторів за допомогою власного тепла і т. д. Близько 40–50 % усього тепла, що виділяється в процесі ферментації (наприклад, окиснення органічних відходів при біотермічному процесі компостування), припадає на тепло, яке утворюється в результаті життєдіяльності продуцента і насамперед за

рахунок енергетичного обміну. Накопичені макроергічні структури (переважно – АТФ) витрачаються в реакціях біосинтезу. Так, наприклад, на утворення одного ефірного зв'язку в молекулі будь-якого метаболіту необхідно 12 570 Дж. При цьому в реакції АТФ → АДФ + 50 280 Дж. Таким чином, з однієї молекули АТФ вивільняється стільки енергії, що більша її частина (37 710 Дж) перетворюється на тепло. Це тепло виділяється нерівномірно – з максимумом, що припадає на період максимальної інтенсивності дихання та найвищої швидкості споживання вуглеводів у період активного розмноження клітин. Тому аеробні біофільтри можна обігрівати за рахунок власного тепла. Необхідно відзначити, що яскравим прикладом використання теплового ефекту від біологічних процесів поза ферментаторами є процес компостування органічних відходів. Це біотермічний процес розкладання органіки аеробною мікрофлорою з факультативними анаеробами з одержанням органічного добрива – компосту. В глибині компостного бурту температура може досягати 70 °С.

Кількість тепла, що утворюється мікроорганізмами, визначається як

$$Y_{\text{ккал}} = \frac{Y_S}{H_S - Y_S \cdot H_C}, \quad (4.13)$$

де $Y_{\text{ккал}}$ – виражається в г клітин/ккал виділеної енергії; Y_S – г клітин/г споживаного субстрату; H_S і H_C – тепло, що виділяється відповідно при згорянні субстрату та клітин (визначаються експериментально), ккал/г.

Чим більше окиснена речовина (глюкоза чи ацетат), тим менше тепла виділяється на одиницю біомаси; чим більшою є величина μ , тим більше ккал. Швидкість виділення тепла за одиницю часу (Q_w) розраховують виходячи зі швидкості росту (μ), об'єму біореактора (V) та коефіцієнта $Y_{\text{ккал}}$:

$$Q_w = V \cdot \mu \cdot x \cdot \frac{1}{Y_{\text{ккал}}}. \quad (4.14)$$

Тепло також утворюється в результаті роботи змішувача, що перемішує культуральну рідину, – «тепло перемішування»:

$$Q_{\text{перем}} = N_r \cdot \tau_{\phi} \cdot 3\,600 \text{ Дж}, \quad (4.15)$$

де N_r (Вт) – потужність, що витрачається на перемішування газорідинної суміші; τ_{ϕ} (година) – час ферментації.

Тепловий ефект перемішування за однакової кількості обертів змішувача буде тим вищим, чим більша в'язкість культуральної рідини. Тому в процесі ферментації, в міру накопичення біомаси, тепловий ефект перемішування зростає.

Третє джерело тепла – *гаряче повітря*, що подається до ферментатора для аеробних мікроорганізмів; під час барботажу він миттєво охолоджується культуральною рідиною та віддає принесене тепло:

$$Q_{\text{нов}} = V_{\text{нов}} \cdot \rho_{\text{нов}} \cdot C_{\text{нов}} \cdot (t_{\text{нов}} - t_{\phi}), \quad (4.16)$$

де $Q_{\text{нов}}, V_{\text{нов}}, \rho_{\text{нов}}, C_{\text{нов}}, t_{\text{нов}}$ – відповідно обсяг, густина і температура повітря, що подається; t_{ϕ} – температура, за якої проводять ферментацію.

Зазвичай тепловий режим у процесі ферментації підтримується на певному рівні та чітко контролюється. Все утворене тепло повинне бути відведене охолоджувальною водою.

Стосовно теплових процесів, що відбуваються у ферментері, можна стверджувати, що всі вони (тепловий ефект біосинтезу, перемішування, тепло, принесене повітрям, тепло випаровування, теплопередача при охолодженні водою) проходять одночасно з різною інтенсивністю та динамічністю, звідси зрозумілі високі вимоги до конструктивних характеристик теплообмінних пристроїв.

Досягнення кінцевих завдань біохімічного оброблення органічних відходів і стічних вод базується на комплексному використанні анаеробних та аеробних процесів (рис. 4.2).

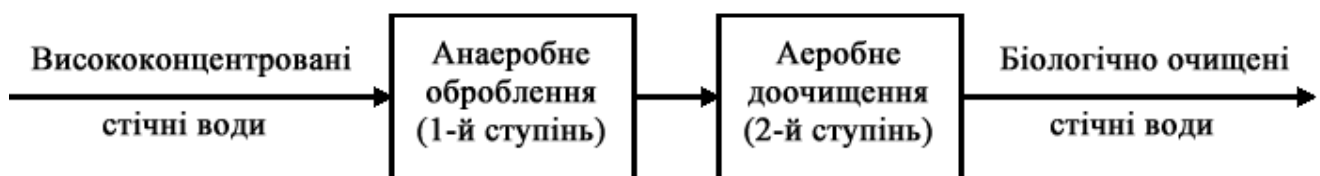


Рисунок 4.2 – Комбіноване анаеробно-аеробне біологічне очищення стічних вод (D. Ungureanu, L. Valmuş, 2005)

Їх відмінність полягає в тому, що аеробні процеси відбуваються за участі суворо аеробних мікроорганізмів, за наявності розчиненого кисню, що забезпечується за допомогою енергоємних систем аерації, а анаеробні процеси здійснюються суворо та факультативно анаеробними мікроорганізмами за відсутності кисню і при цьому відповідно немає необхідності в енергоємних системах аерації.

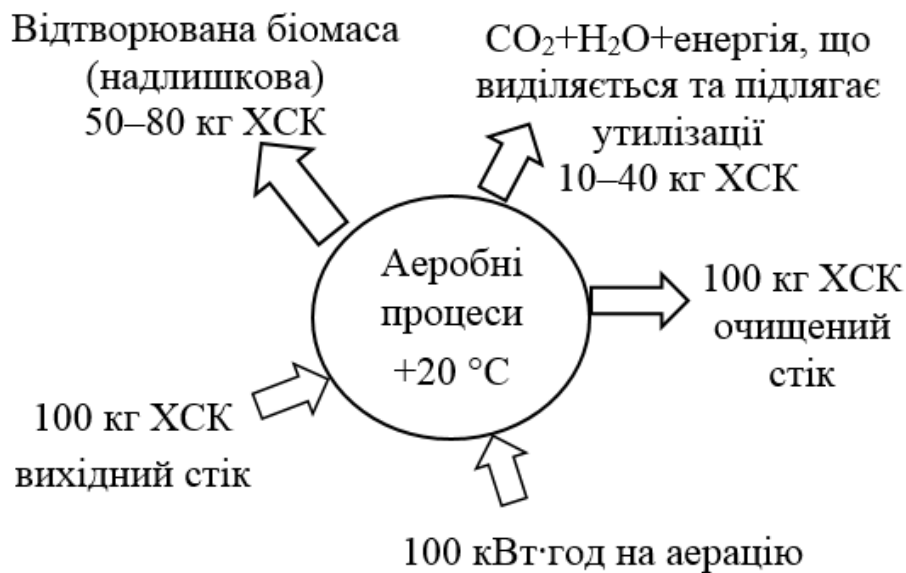
В анаеробних процесах органічні речовини не окиснюються повністю, і частина енергії вихідного субстрату зберігається в досить складних проміжних продуктах анаеробного зброджування і в газах бродіння, що виділяються при цьому. Залишкові проміжні продукти зброджування здатні до подальшого окиснення зі споживанням кисню, що робить неможливим скидання анаеробно оброблених стоків безпосередньо у водойму, тому що це може призвести до створення кисневого дефіциту в ній. Таким чином, після анаеробного очищення стічних вод необхідна наступна сходинка доочищення. Таке анаеробно-аеробне біологічне очищення застосовують зазвичай для висококонцентрованих за біорозкладеними органічними забрудненнями стічних вод (наприклад, підприємств переробної харчової промисловості).

Існує ще одна важлива відмінність між аеробними й анаеробними процесами, яка полягає в кількості органічних речовин, що перетворюються на клітинний матеріал, які характеризують приріст біомаси й утворення опадів, що вимагають спеціального оброблення (ущільнення, стабілізація, зневоднення та ін.). Це оброблення ускладнює технологічну схему очисних станцій і є досить дорогим і складним. Ступінь перетворення органічних речовин на біомасу різко відрізняється для цих двох процесів. Так, при аеробному біологічному очищенні за допомогою активного мулу 50–80 % органічних забруднень, виражених через ГДК, перетворюється на приріст біомаси – надлишковий активний мул, який потрібно видалити із системи очищення та спеціально обробити, у той час як при анаеробному очищенні лише 10 % органічних забруднень

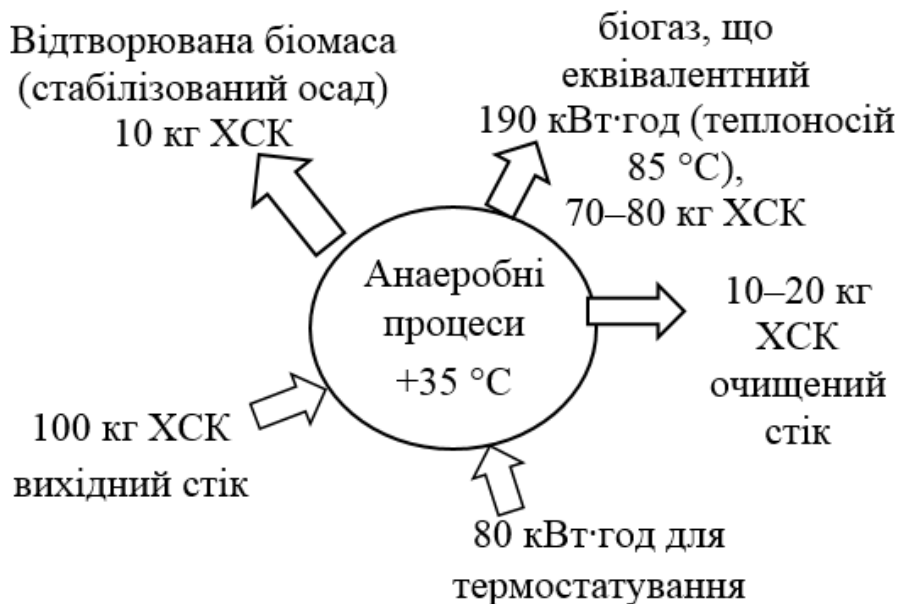
витрачаються на приріст біомаси, тому що основну частину органічних речовин анаеробні мікроорганізми споживають для одержання енергії, вихід якої в реакціях енергетичного обміну при анаеробному бродінні невеликий, оскільки органічні речовини не окиснюються повністю, і частина енергії вихідного субстрату зберігається в досить складних продуктах бродіння. Саме з цих причин на очисних станціях систем водовідведення анаеробні процеси бродіння є кращими для оброблення концентрованих субстратів осадів стічних вод.

Перевага анаеробних процесів над аеробними зумовлюється порівнянням їх енергетичних характеристик (рис. 4.3).

Як бачимо з рисунка 4.3, аеробне очищення споживає приблизно 100 кВт/год на 100 кг ХСК, що міститься у вихідній стічній воді, яка витрачається для забезпечення аеробних процесів киснем через систему аерації. На відміну від неї анаеробне очищення відбувається з виділенням біогазу (горючої суміші газів бродіння), еквівалентного 190 кВт/год, який можна перетворити на теплоносії, частина якого витрачається на власні потреби, тобто на підтримання термічного режиму в анаеробних біореакторах; ця кількість енергії дорівнює приблизно 80 кВт/год. Таким чином, у результаті анаеробного біологічного очищення чистий вихід одержуваної енергії становить $190 - 80 = 110$ кВт/год на 100 кг ХСК на відміну від аеробного очищення, яке споживає 100 кВт/год на 100 кг ХСК.



а



б

Рисунок 4.3 – Порівняльна енергетична характеристика аеробних та анаеробних процесів біологічного очищення стічних вод (за В. В. Ковальов та ін., 2012): а – аеробні процеси; б – анаеробні процеси

Анаеробно очищені стічні води містять залишкову кількість неокиснених продуктів бродіння, які необхідно видалити аеробним

шляхом перед скиданням стоків у водойми. Ці залишкові органічні забруднення становлять 10–20 кг ХСК/м³ і, можливо, вимагатимуть не 10–20 кВт/год на своє окиснення, будучи такими, що важче розкладаються, а вдвічі більше – 20–40 кВт/год. Навіть у такому випадку на комбінації анаеробно-аеробних процесів для біологічного очищення стічних вод можна забезпечити одержання чистої енергії: $110 - 40 = 70$ кВт/год на 100 кг ХСК, шляхом її виробництва, утилізуючи біогаз у когенераційних установках. Ця обставина має дуже важливе значення як для енергозбереження, так і для підвищення надійності й ефективності роботи очисних станцій систем водовідведення, охорони довкілля від виділень газів бродіння, що має тепличний ефект.

4.3. Технологічні особливості процесів аеробної та анаеробної ферментації

Біотехнологічний процес містить три основні стадії: передферментаційну, ферментаційну та постферментаційну.

На передферментаційній стадії здійснюють зберігання і підготовку культури продуцента (інокуляту), одержання та підготовку живильних субстратів і середовищ, ферментаційної апаратури, технологічної й циркульованої води та повітря. Підтримання та підготовка чистої культури є дуже важливими моментами передферментаційної стадії, оскільки продуцент, його фізіолого-біохімічні характеристики та властивості визначають ефективність усього біотехнологічного процесу.

Стадія ферментації є основною стадією в біотехнологічному процесі, оскільки в її процесі відбуваються взаємодія продуцента із субстратом та утворення цільових продуктів (біомас, ендо- й екзопродуктів). Ця стадія проходить у біохімічному реакторі (ферментері) та може бути організована залежно від особливостей використовуваного продуцента й вимог до типу та якості кінцевого продукту різними способами.

Культивування біологічних об'єктів може здійснюватися в періодичному та проточному режимах, напівбезперервно з підживленням субстратом, які будуть розглянуті нижче.

Постферментаційна стадія забезпечує одержання готової товарної продукції, а також, що не менш важливо, знешкодження відходів і побічних продуктів. Залежно від локалізації кінцевого продукту (клітина чи культуральна рідина) та його природи на постферментаційній стадії застосовують різну апаратуру та методи виділення й очищення. Найбільш трудомістким є виділення продукту, що накопичується в клітинах.

За технологічним оформленням розрізняють такі мікробіологічні процеси: аеробне й анаеробне; твердофазове, поверхневе та глибинне; періодичне та безперервне культивування.

Аеробне культивування – аерація середовища – неодмінна умова в тих мікробіологічних процесах, в яких використовують аеробні мікроорганізми-продуценти.

Потреба аеробних мікроорганізмів у молекулярному кисні залежить від окиснюваного джерела вуглецю й фізіологічних властивостей та активності росту мікроорганізмів. Для біосинтезу

1 кг дріжджової біомаси необхідно, наприклад, 0,74–2,6 кг молекулярного кисню. При інтенсивному споживанні субстрату незалежно від джерела вуглецю продуцент асимілює 0,83–4,0 мг кисню/1 л середовища/хв.

Розчинність кисню в середовищі порівняно низька й залежить від температури, тиску та концентрації розчинених, емульгованих і диспергованих компонентів. За тиску 0,1 МПа й температури 30 °С в 1 л дистильованої води максимальна кількість розчиненого кисню становить 7,5 мг. У реальному живильному середовищі максимальна розчинність кисню коливається в інтервалі 2–5 мг/л. Запаси кисню в середовищі забезпечують життєдіяльність аеробного продуцента впродовж 0,5–2 хв.

Під час росту біомаси мікроорганізми зазвичай споживають більше кисню, ніж під час надсинтезу цільового метаболіту. Іноді це свідчить про критичну концентрацію кисню, за якої спостерігається лімітація дихання клітин. Для більшості аеробних мікроорганізмів, що ростуть у цукровмісних субстратах, критична концентрація кисню 0,05–0,10 мг/л, що відповідає 3–8 % від повного насичення середовища киснем. Лімітація росту та фізіологічної діяльності клітин спостерігається за більш високих концентрацій кисню: на середовищах із глюкозою росту дріжджів лімітується при pO_2 на рівні 20–25 % від повного насичення.

Оптимальною для зростання біомаси вважається концентрація кисню 50–60 % від повного насичення, для біосинтезу цільових метаболітів – 10–20 %.

Залежно від того, що є кінцевим акцептором водневих атомів або електронів, ферментаційні процеси поділяють на три групи: дихання (акцептор – кисень); бродіння (акцептор – органічна речовина) й анаеробне дихання (акцептор – неорганічна речовина: нітрати, сульфати та ін.).

В **облігатних анаеробів** бродіння є єдиним можливим способом одержання енергії; у факультативних анаеробів воно становить обов'язкову першу стадію катаболізму глюкози, за якою може проходити аеробне окиснення утворених продуктів, якщо в середовищі наявний кисень. Відокремленою проміжною групою є аеротолерантні мікроорганізми, що одержують необхідну для життєдіяльності енергію в анаеробному процесі, тобто на рівні субстратного фосфорилування, й одночасно мають дихальний ланцюг для поглинання кисню середовища та створення сприятливих анаеробних умов. Цей ефект має назву «ефект дихального захисту».

Анаеробні умови на виробництві створюють герметизацією апаратури, продуванням середовища інертними газами, зокрема газоподібними продуктами, що утворилися під час ферментації. Відсутність необхідності аерації середовища дещо спрощує при анаеробній ферментації конструкцію ферментера (біореактора) та полегшує керування процесом.

Поверхнєве культивування на рідких субстратах реалізується в кюветах із середовищем, поміщених у камери, вентильовані повітрям. Культура мікроорганізмів при цьому утворює біомасу у вигляді плівки або твердого шару на поверхні рідкого середовища. Культура

споживає кисень безпосередньо з газової фази – повітря. Масообмін у таких умовах малоінтенсивний.

Рідкі живильні середовища навіть без перемішування дозволили уникнути недоліків, пов'язаних із домішками агару у змивній суспензії, та збільшили вихід процесу за рахунок використання великих ємностей для культивування (бутлі, ферментери). Застосування для культивування клітин рідких живильних середовищ із примусовим перемішуванням культури з метою вирівнювання умов зростання в різних частинах робочого об'єму культиваційної ємності привело до появи динамічних систем глибинного культивування, оснащених спеціальним обладнанням.

Глибинне культивування мікроорганізмів відбувається в усьому об'ємі рідкого живильного середовища, що містить розчинений субстрат. Ферментер повинен забезпечувати ріст і розвиток популяцій мікроорганізмів в об'ємі рідкої фази, підведення поживних речовин до клітин мікроорганізмів, відведення від мікробних клітин продуктів їх обміну речовин (метаболізму), відведення із середовища тепла, що виділяється клітинами. При *глибинному культивуванні* для аеробів запаси кисню в живильному середовищі відновлюються під час подавання аерованого повітря. Швидкість абсорбції кисню збільшується зі зростанням інтенсивності перемішування середовища.

Глибинне культивування у ферментерах порівняно зі статичним і поверхневим прискорило ріст і розвиток мікроорганізмів за рахунок усунення «голодної зони» навколо мікробної клітини та дозволило одержувати однорідну культуру «ідеального змішування». Клітини в

такій системі рівномірно розподілені за обсягом ферментера і в кожний момент часу перебувають в однакових умовах, тобто живильні субстрати та продукти метаболізму розподілені також рівномірно. «Ідеальне змішування» особливо важливе для вивчення процесів росту та розвитку мікробної популяції в цілому. Застосування динамічних глибинних систем культивування дозволило більш раціонально одержувати не лише біомасу й ендометаболіти, а й екзопродукти мікробного синтезу, що виділяються клітиною в довкілля. Подальше вдосконалення процесу глибинного культивування було спрямоване на розроблення систем контролю умов культивування.

Періодичний спосіб культивування

При періодичному способі культивування ферментер заповнюється вихідним живильним середовищем й інокулятом мікроорганізмів ($X_0 + S_0$ на рисунку 4.4). Цей спосіб передбачає одержання культури для досягнення заданої фази розвитку популяції. Ферментатор заповнюють не більше ніж на 70 % від його загального об'єму. Впродовж певного періоду часу в апараті відбувається взаємодія мікроорганізмів і субстрату, що супроводжується утворенням у культурі продукту ($X + S \rightarrow P$).

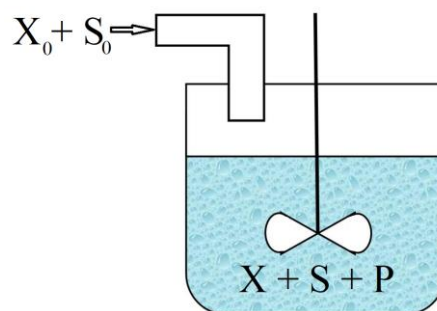


Рисунок 4.4 – Схема біореактора періодичної дії

Під час вивчення динаміки зростання культур мікроорганізмів необхідно суворо дотримуватися певних умов:

- 1) життєздатності засіву;
- 2) наявності в середовищі культивування всіх необхідних поживних речовин;
- 3) відсутності в середовищі інгібіторів, що пригнічують ріст клітин;
- 4) підтримування в середовищі оптимальними всіх фізико-хімічних умов.

У простій гомогенній періодичній культурі можна виділити кілька фаз росту (рис. 4.5).

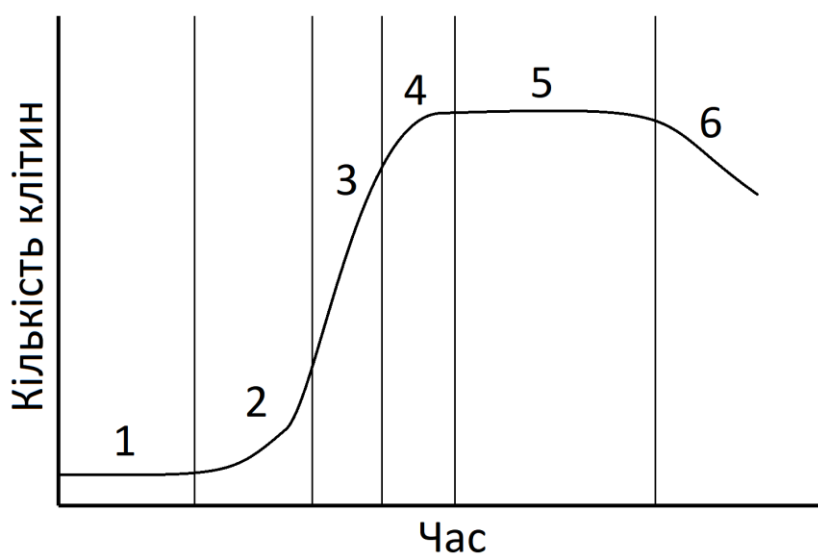


Рисунок 4.5 – Основні фази кривої росту

1. *Лаг-фаза (1)*. При внесенні клітин із культури, що перебуває в стаціонарній фазі, у свіже середовище того самого складу вони набувають здатності до відновлення росту лише після певного періоду, впродовж якого відбувається зміна їх хімічного складу. Зазвичай під час перенесення клітин із бідного середовища в багате зі збільшенням віку інокуляту лаг-фаза продовжується.

2. *Фаза експоненціального росту (2)*. Експоненціальний ріст із високими швидкостями зазвичай не підтримується в мікробній популяції тривалий час. У нормі він обмежується внаслідок вичерпання доступних джерел живлення або накопичення токсичних продуктів обміну речовин у ростовому середовищі, або через деякі зміни у фізичних властивостях середовища. У результаті цього швидкість росту знижується і в кінцевому підсумку ріст припиняється.

3. У замкненій системі експоненціальна фаза росту не може розвиватися необмежено. Зазвичай вона переходить у *фазу лінійного росту (3)*, що характеризується рівномірним у часі лінійним ростом культури, має місце відхилення від точок у бік менших значень кількості клітин або продуктів, що є експериментальним критерієм переходу культури в лінійну фазу росту.

4. Фаза лінійного росту може змінюватися досить нетривалий період, упродовж якого швидкість росту культури знижується до нуля. Це *фаза уповільнення росту (4)*.

5. *Стаціонарна фаза (5)*. Зміни у фізичному та хімічному складі середовища призводять до переходу культури в стаціонарну фазу, в якій збільшення кількості клітин не відбувається, але клітини ще потребують джерел енергії для підтримання своєї життєдіяльності. Перехід з експоненціальної фази в стаціонарну вміщує період незбалансованого росту, якщо різні клітинні компоненти синтезуються з різними швидкостями.

6. *Фаза відмирання (6)*. До загибелі клітин призводить ряд факторів, найважливішим з яких є вичерпання запасів енергії в

клітині. Спостерігається різке експоненціальне зменшення кількості життєздатних клітин. Швидкість відмирання залежить від видових особливостей організму. Для деяких цілей цілком достатньо якісної характеристики росту, тобто звичайного спостереження, чи має місце взагалі ріст культури, але для того щоб мати подальшу більш повну інформацію, необхідно вимірювати ріст кількісно.

Періодичні культури перебувають у нестійкому стані, що є серйозним недоліком, особливо якщо їх застосовують під час вивчення властивостей мікроорганізмів. *Практично всі системи періодичного культивування є закритими*, оскільки мікроорганізми в них розмножуються та проходять усі фази розвитку без припливу живильного середовища та відпливу культуральної рідини.

Напівбезперервний спосіб культивування

У напівбезперервних системах повне завантаження та розвантаження ферментера здійснюються одноразово, однак у процесі росту культури частина її зливається, а об'єм, що звільнився, заливається свіжим живильним середовищем. Таким чином, функціонує зливно-доливна система. Отже, напівбезперервне культивування характеризується частотою та об'ємом, що зливається, вирощеної культури та додаванням свіжого живильного середовища до робочої ємності ферментера.

Сталі режими напівбезперервного культивування характеризуються коливанням концентрації мікроорганізмів біля однієї й тієї самої сталої величини та сталістю середньої питомої швидкості росту популяції.

Напівбезперервне культивування мікроорганізмів здійснюється у відкритій динамічній гомогенній одностадійній системі в будь-якому ферментері для періодичного культивування, оснащеному системою перемішування й аерації.

Безперервний спосіб культивування

У безперервних процесах культивування клітини постійно підтримуються в експоненціальній фазі росту. Для цього в біореактор безупинно подається свіже живильне середовище та забезпечується відплив із нього культуральної рідини, що містить клітини та продукти їх життєдіяльності. Основним принципом безперервних процесів (як уже зазначалося вище) є чітке додержання рівноваги між приростом біомаси внаслідок поділу клітин та їх зменшенням у результаті розведення вмісту свіжим середовищем. Розрізняють хемостатний та турбідостатний режими безперервного культивування.

Безперервне культивування проводиться у відкритій динамічній системі, що може бути як гомогенною, так і гетерогенною. Ця система здатна до тривалої роботи в сталому режимі, а найчастіше використовують гомогенні системи.

При безперервному культивуванні мікроорганізмів необхідно запобігти вимиванню культури із системи, тобто забезпечити постійну концентрацію клітин. У стерильних умовах безперервний, проточний метод забезпечує збереження культури у фізіологічно активному стані тривалий час.

За кількістю ферментерів (стадій, ступенів) гомогенні системи можуть бути одностадійними, двостадійними та багатастадійними.

Безперервне культивування в одному біореакторі називають одностадійним. Багатастадійне вирощування передбачає послідовне або каскадне розміщення біореакторів, що дозволяє їй досягти впровадження принципу диференційованих режимів у безперервні біотехнологічні процеси, що базуються на створенні системи біореакторів.

Системи культивування повного змішування.

Теорія хемостатного культивування

При *хемостатному режимі* культивування саморегульована система виникає з таких причин: якщо первинне надходження свіжого живильного середовища та вимивання біомаси перевищує швидкість поділу клітин, то в результаті розведення культури знижується концентрація речовин, що обмежує ростові процеси, та швидкість росту культури підвищується; популяція, що збільшується, починає активніше «виїдати» субстрат, що, у свою чергу, призводить до гальмування росту культури. Кінцевим підсумком цих процесів є (після серії загасальних коливань) встановлення рівноваги між швидкістю росту культури та її розведенням.

Для хемостатної культури існують певні кількісні залежності між концентрацією біомаси x , концентрацією субстрату s та швидкістю росту μ . Ріст культури характеризується хемостатною кривою, що зображує залежність концентрації клітин x і концентрації субстрату s від швидкості розведення D (рис. 4.7).

Змінюючи концентрацію фактора, який лімітує ріст, можна міняти щільність популяції. Змінюючи швидкість розведення, можна одержувати режими, що забезпечують різну швидкість росту

популяції. Під час повільного протікання середовища, тобто при повільному рості культура, зазнає сильної лімітації, глибокого голодування за цим субстратом. Під час швидкого протікання середовища, тобто при швидкому рості, ступінь голодування слабкий, що наближається до умов експоненціального росту.

Для всіх організмів тут існує однакова ймовірність винесення з реактора, і правило перехресних кривих реалізується повною мірою. У басейні встановлюються стаціонарні концентрації субстрату, продукту й активної біомаси (рис. 4.6).

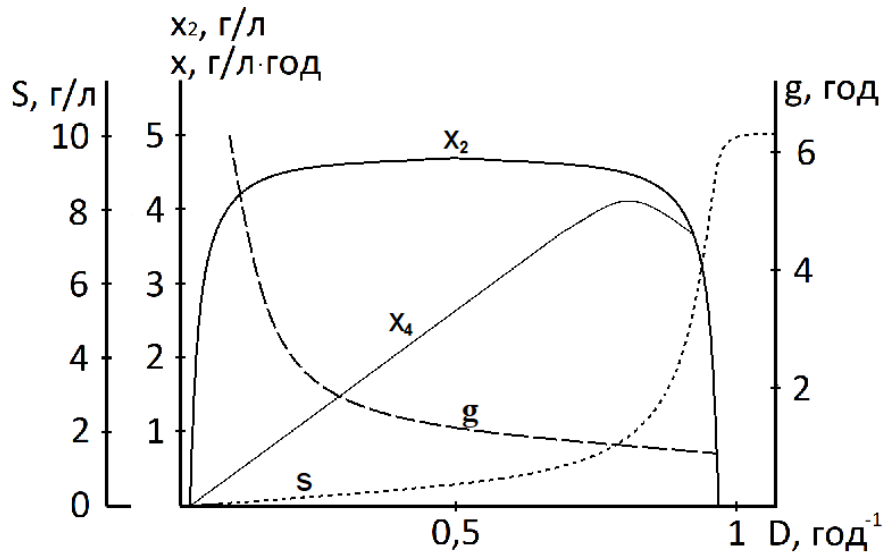


Рисунок 4.6 – Хемостатна крива (за М. Madigan et al., 1997): співвідношення між густиною бактеріальної суспензії (x_2), концентрацією субстрату (s), часом подвоєння бактерій (g) та врожаєм біомаси (x) у хемостаті; D – швидкість розведення факторів, що лімітують дію на чистих культурах, і конкурентні взаємовідношення – на змішаних

Швидкість розведення при стабільному стаціонарному стані, якщо культура розвивається зі сталою швидкістю і всі умови незмінні, дорівнює питомій швидкості росту:

$$D = \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt} = \mu. \quad (4.17)$$

Питома швидкість росту – це приріст біомаси за одиницю часу.

Швидкість розведення середовища у ферментері з розрахунку на одиницю об'єму D дорівнює відношенню швидкості потоку до V – об'єму культури. Обернена величина $V/F = t_r$ – час заміщення наявного середовища новим або час перебування у ферментері кожного елемента середовища.

Баланс біомаси x , наявний у ферментері під час стаціонарного стану, складається таким чином: зміна кількості біомаси = ріст – біомаса, що витекла.

$$\text{Швидкість росту} = \frac{dx}{dt} = (\mu - D) \cdot x. \quad (4.18)$$

Баланс субстрату, що лімітує зростання: зміна кількості субстрату = приплив – віднесення споживання субстрату мікроорганізмами.

$$\text{Швидкість споживання субстрату} = \frac{ds}{dt} = D \cdot (s_r - s) \cdot \frac{\mu \cdot x}{Y}, \quad (4.19)$$

де Y – економічний коефіцієнт, або частка спожитого субстрату, витрачена на синтез біомаси; s_r – концентрація субстрату в середовищі, що надходить; s – концентрація субстрату у ферментері.

Швидкість росту в стаціонарному стані у ферментері

$$\mu = \frac{\mu_m \cdot s}{(s + K_s)} \quad (4.20)$$

де μ_m – максимально можлива швидкість росту; K_s – константа Моно. Вона чисельно дорівнює тій залишковій концентрації субстрату, яка, обмежуючи зростання, уповільнює його вдвічі.

Стаціонарна концентрація субстрату s у ферментері визначається швидкістю розбавлення та кінетичними параметрами росту мікроорганізму і не залежить від початкової концентрації субстрату:

$$s = \frac{K_s \cdot D}{(\mu_m - D)} \quad (4.21)$$

Стаціонарна концентрація біомаси лінійно залежить від концентрації введеного у ферментер розчину субстрату:

$$x = Y \cdot (s_r - s) = Y \cdot \left[\frac{s_r - K_s \cdot D}{(\mu_m - D)} \right] \quad (4.22)$$

У хемостаті практично можна лише наблизитися до μ_m , але не досягти його. Швидкість розведення, за якої біомаса вимивається з ферментера, називається D критичною (кр). Ріст культури в режимі хемостату характеризується критичною швидкістю розведення $D_{кр}$, вище за яку не спостерігається ріст культури. Теретично $D_{кр} = \mu_m$, але оскільки концентрація субстрату, що лімітує в апараті, не може бути більшою, ніж s_r , то

$$D_{кр} = \mu_m \cdot \frac{s_r}{s_r + K_s} \quad (4.23)$$

Продуктивність ферментера з виходу біомаси

$$R = D \cdot x \quad (4.24)$$

Знаючи основні константи K_s , μ_m і Y , можна розрахувати параметри культури x і s для будь-якого значення μ (s) = D .

Стаціонарна концентрація продукту лінійно пов'язана з концентрацією субстрату, що вводиться:

$$P_{CT} = \frac{M_{CT}}{Y_P}, \quad (4.25)$$

$$P_{CT} = \frac{Y_S}{Y_P} \left(s_r - \frac{D \cdot K_S}{\mu_m - D} \right). \quad (4.26)$$

Залежність стаціонарної концентрації продукту від s_r і D аналогічна залежності від цих змінних стаціонарної концентрації клітини.

Системи культивування повного витіснення

Цей спосіб культивування використовують для анаеробних умов. Відкрита система повного витіснення відрізняється від системи ідеального змішування тим, що культура в ній не перемішується і являє собою потік рідини через трубку. Найпоширенішим апаратом є трубчастий реактор (рис. 4.7). Він може мати різноманітну форму (пряму, S-подібну, спіральну) і встановлюється горизонтально або вертикально. Система повного витіснення являє собою просторовий, проточний варіант періодичної культури. Така культура за час від посіву до вивантаження проходить усі стадії періодичної культури, тобто фази росту розподілені не в часі, а в просторі, причому кожній частині ферментера в сталому режимі відповідає певний відрізок

кривої росту. Засівання здійснюється безперервно на вході у ферментер одночасно з подаванням середовища. За таким принципом проводять стадію бродіння під час виробництва пива у баштових проточних ємностях. Необхідно відзначити, що на цей час з'явилися ферментаційні апарати, які забезпечують процеси з режимом, що наближається до повного витіснення і при аеробному культивуванні. Це обертові трубчасті реактори з насадкою чи внутрішніми аерувальними елементами, а також багатосекційні колонкові апарати.

У ході цього процесу живильне середовище та посівний матеріал безперервно надходять в апарат, у якому немає зворотного змішування. Апарат виконують у вигляді довгої труби великого діаметра.

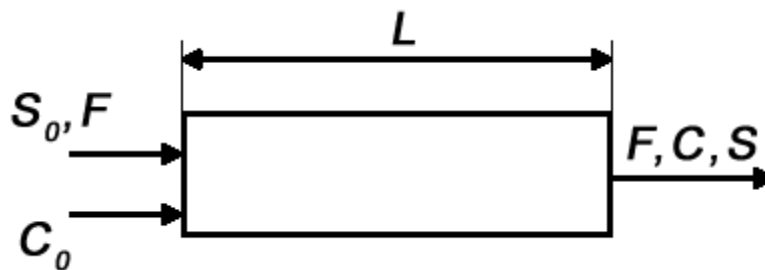


Рисунок 4.7 – Схема тубулярного безперервного процесу культивування мікроорганізмів: S_0 – концентрація субстрату в середовищі, що надходить; S – концентрація субстрату в середовищі, що витікає; C_0 – початкова концентрація біомаси; C – концентрація біомаси, що витікає; F – об'ємні витрати рідини; L – довжина трубчастого ферментатора

4.4. Твердофазова та рідиннофазова ферментація – застосування у біотехнологічних процесах захисту довкілля

Традиційним способом застосування твердофазової ферментації (ТФФ) є виробництво продуктів вторинного метаболізму (антибіотики, алкалоїди, гормони росту тощо), біологічне паливо, ферменти, органічні кислоти, ароматичні сполуки, біологічна детоксикація агропромислових відходів, харчові добавки, біофармацевтичні продукти та ін. Ця технологія привернула до себе увагу як альтернатива рідиннофазової ферментації (РФФ) в екологічних біотехнологіях (табл. 4.1). Продукти, одержані ТФФ, більш стійкі, витрати на енергоспоживання нижчі, обсяг ферментерів менший, а обсяги забруднювальних стоків значно знижені.

Таблиця 4.1 – Застосування ТФФ у різних галузях народного господарства (за К. О. Смирновим, Ю. Д. Алашкевичем та ін., 2009)

Сектор	Приклад
Агропромислова індустрія	Біотрансформація відходів сільського господарства. Харчові добавки
Контроль стану довкілля	Біоремедация та перероблення небезпечних компонентів. Біологічна детоксикація агропромислових відходів. Виробництво біопестицидів
Промислова ферментація, енергетика, зелена	Виробництво ензимів, біологічно активних речовин, органічних кислот, біопалива

Твердофазову ферментацію зазвичай реалізують у твердому, сипкому або пастоподібному середовищі, вологість якого становить 30–80 %.

Розрізняють три типи твердофазових процесів:

– поверхневі процеси: шар субстрату, наприклад соломи, не перевищує 3–7 см («тонкий шар»); роль біореактора відіграють великі, площею до декількох квадратних метрів, таці з алюмінію або культивацийні камери);

– глибинні твердофазові процеси в незмішуваному шарі («високий шар»): біореактори являють собою глибокі відкриті посудини. Для аеробних процесів розроблені пристрої, що забезпечують дифузний та кон'юнктивний газообмін;

– твердофазові процеси в перемішуваній та аерованій масі субстрату, що може бути гомогенною або складатися з частинок твердого субстрату, завислих у рідині.

Якщо субстрат сипкий, то окремі тверді частинки його добре контактують із повітрям, зростання мікроорганізмів у цьому разі відбувається переважно на поверхні твердих частинок, а також у порах, заповнених або водою, або повітрям.

Порівняння між РФФ і ТФФ виявило таке:

1. Низький вміст води зменшує можливості контамінації бактеріями та дріжджами.

2. Умови довкілля подібні до природного середовища існування для грибів, що складають основну групу мікроорганізмів, які використовуються для ТФФ.

3. Вищий рівень аерації, особливо необхідний у процесах з інтенсивним окиснювальним метаболізмом.

4. Інокуляція разом зі спорами полегшує однорідне розсіювання в середовищі.

5. Тверді субстрати зазвичай дають усі поживні речовини, необхідні для росту колонії.

6. Збагачені субстрати дозволяють використовувати простіші й більш економічні конструкції біореакторів.

7. Малі енерговитрати – у деяких випадках відсутня потреба в автоклавуванні, обробленні парою, механічному перемішуванні й аерації.

8. Через високу концентрацію продукту необхідність у спеціальних розчинниках знижена.

9. Низький рівень вологості може позитивно позначитися на виробництві певних продуктів, які не можуть бути культивованими в умовах РФФ.

10. Продуктивність для продуктів, одержаних ТФФ, вища.

У той самий час ТФФ має ряд недоліків порівняно з РФФ:

1. Можуть використовуватися лише мікроорганізми, здатні рости за низьких рівнів вологості.

2. Зазвичай субстрати вимагають попереднього оброблення (зменшення розміру, гомогенізації, фізичного, хімічного або ферментативного гідролізу, варіння або оброблення парою).

3. Ускладнений аналіз параметрів біомаси (вологість, рН, масообмін, теплообмін).

4. Виникають труднощі в контролі параметрів процесу (рН-фактора, вологовмісту і концентрації субстрату, кисню та біомаси).

5. Багато важливих наукових і технічних аспектів маловивчені. Інформація про проектування та роботу реакторів великим масштабом недостатня.

6. Можливість контамінації небажаними грибами.

7. Труднощі у відведенні метаболічної температури, виробленої впродовж росту.

8. Екстракти, що містять продукти, одержані ТФФ, часто є в'язкими.

9. Масопередача обмежена поширенням колонії.

10. Забезпечення мікроорганізмів киснем ускладнюється зі збільшенням шару субстрату.

11. Час культивування збільшено у зв'язку з потребою спорів у проростанні.

12. Час культивування триваліший, ніж у РФФ.

13. Перемішування шару не допускається, якщо культивуються міцеліальні мікроорганізми, наприклад мікроміцети, та через відсутність перемішування ріст мікроорганізмів відбувається за принципом колонізації, тому часто виникає локальна нестача поживних речовин.

Значна частина виявлених недоліків ТФФ порівняно з РФФ може бути знята під час використання результатів глибокого вивчення твердофазової ферментації. Ряд дослідників стверджує, що ТФФ більш ефективна й економна, ніж РФФ, у виробництві широкого спектра біопродуктів (корми, ферменти, органічні кислоти, біопульпа, ароматизатори, антибіотики, компост, біопестициди тощо). При виборі мікроорганізмів для культивування необхідно враховувати їх специфічні властивості.

Бактерії та дріжджі також можуть бути культивовані твердофазовим способом. Однак міцеліальні гриби найкраще

пристосовані для ТФФ унаслідок їх фізіологічних, ензимологічних і біохімічних властивостей. Ниткоподібний спосіб росту грибів дозволяє міцеліальним грибам потрапити у тверді субстрати, що також надає їм основну перевагу перед одноклітинними мікроорганізмами для колонізації субстрату та використання доступних поживних речовин. Крім того, їх здатність зростати в умовах низької водної діяльності та високого осмотичного тиску робить гриби ефективними й конкурентоспроможними в природній мікрофлорі для біоконверсії твердих субстратів.

Основними чинниками, що впливають на результати ТФФ, є такі властивості субстрату, як розмір частинок, їх форма та пористість, а також масопередача, температура, рівень кислотності й вологовміст середовища.

Роль вологовмісту субстрату була широко описана та розглянута різними авторами. Вологовміст – критичний фактор процесу ТФФ, що впливає на ріст і біосинтез метаболітів. Оптимальний рівень вологості субстрату коливається між 30 та 75 %. Нижчий вологовміст викликає зниження розчинності поживних речовин, споруляцію. Більш високий рівень вологості спричиняє стеричні перешкоди росту, скорочення пористості та обмін киснем, збільшується ризик бактеріального забруднення.

У ТФФ розрізняють два типи масопередачі: в мікромасштабі (передаванням у комірці та з комірок мікроорганізму) й у макромасштабі (передача кисню, конвекція) поза комірками.

Збільшення температури в ТФФ – наслідок метаболічної діяльності, якщо видалення високої температури недостатнє. Це

впливає безпосередньо на пророщення спорів, ріст і формування продукту. Досягнений температурний рівень – функція типу мікроорганізму, пористості, діаметра частинок та глибини основи.

Контролювати температуру при ТФФ дещо важче, ніж у РФФ, у зв'язку з природою субстрату. Таким чином, методи контролю, які використовують у РФФ, не застосовують для ТФФ. Традиційний спосіб контролю – вентиляція. Високий рівень аерації здатний знизити водну активність, тому використовується насичений кисень. Рівень рН-фактора контролюється додаванням джерел азоту (солі амонію та нітратів).

До систем твердорідинного типу відносять багатофазові системи, в яких культура зростає на межі різних фаз: рідина – тверда фаза, рідина – тверда фаза – газ. У цих системах клітини утримуються шляхом прилипання до твердої основи – наповнювача та розмножуються на ній, утворюючи плівку біомаси. Типовим прикладом є виробництво оцту в стружкових апаратах.

У процесах аеробного росту лімітувальними факторами, ймовірно, є кисень і субстрат. У тонких плівках біомаси кожна з прикріплених до поверхні мікробних клітин повністю забезпечена живильним середовищем і здатна рости та розмножуватися з максимальною експоненціальною швидкістю. У міру того як клітини утворюють товщу плівки біомаси ріст їх лімітується дифузією субстрату та кисню всередину цієї плівки.

Культивування мікроорганізмів, що утворюють плівки з біомаси, здійснюється у ферментері типу стовпчика з наповнювачем. Як наповнювач може використовуватися макроносій (кокс, лозини,

стружка, скляні кульки тощо) або мікроносій (амберлітові смоли, частинки сефадексу та ін.). Клітини, які культивуються таким чином, називають іммобілізованими.

У промисловій мікробіології системи твердорідинного типу набули застосування у «зрошувальних фільтрах» при очищенні стічних вод, у виробництві органічних розчинників і кислот, у збродженні гідролізату деревини на спирт тощо.

Культивування на твердому носії використовують також під час вивчення метаболічної активності природних мікробних популяцій. При пропусканні різних розчинів через стовпчик із зразка ґрунту, що є носієм, одержують моделі умов, близьких до природних. Стали поширеними багатофазові системи у виробництві пива.

До багатофазових систем твердорідинного типу відносять і такі, в яких твердою фазою є сама культура, яка утворює плівки на поверхні рідкого живильного середовища, що протікає. Ріст мікроорганізмів у цьому разі здійснюється в спеціальній горизонтальній ємності.

Все ж таки в сучасній екологічній біотехнології домінує використання рідиннофазового культивування, що, на наш погляд, є абсолютно виправданим і раціональним. Хоча необхідно враховувати специфічність існуючих напрямів біотехнологічних процесів (біоочищення стічних вод, біодеструкції нафтових забруднень, біоремедатії забруднених ґрунтів тощо) і відповідно можливість використання твердофазової і рідиннофазової ферментації для їх реалізації.

РОЗДІЛ 5

ІНЖЕНЕРНА РЕАЛІЗАЦІЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

5.1. Апаратне оснащення біотехнологічних виробництв

Питаннями технічного забезпечення біотехнологічних процесів займається біоінженерія. Для різних процесів існує величезна різноманітність апаратури: власне для процесу ферментації, а також для виділення та отримання готового продукту.

Найбільш складна і специфічна апаратура для ферментаційної стадії. Технічно найбільш складними процесами ферментації є аеробний глибинний стерильний і безперервний (чи з підживленням субстратом). Апарати для поверхневої та анаеробної ферментації менш складні й енергоємні. У сучасній літературі описані сотні біореакторів, що відрізняються за конструкцією, принципом роботи та розмірами (від декількох літрів до декількох тисяч кубометрів). Численність методів культивування, надзвичайна різноманітність використовуваних біологічних агентів привели до величезної різноманітності конструктивних рішень, що залежать від низки чинників: типу продуцента й середовища, технології та масштабів виробництва, а також цільового продукту та ін. Технічне оснащення біотехнології базується на загальних положеннях технічної біохімії і харчової технології, проте має свою специфіку. Принципова відмінність біотехнологічних процесів від суто хімічних полягає в такому:

- чутливість біологічних агентів до фізико-механічного впливу;
- наявність міжфазового перенесення речовин (за типом «рідина – клітини», «газ – рідина – клітини»);

- вимоги умов асептики;
- низькі швидкості проходження багатьох процесів у цілому;
- нестабільність цільових продуктів;
- піноутворення;
- складність механізмів регуляції зростання та біосинтезу.

У мікробіологічних виробництвах залежно від особливостей процесу застосовують різноманітні ферментери або біореактори.

Біореактори зазвичай є герметичними циліндричними ємностями, висота яких у 2–2,5 рази перевищує діаметр. Найчастіше їх виготовляють із нержавіючої сталі. Для підтримання температури в апараті є подвійний кожух або теплообмінник типу змійовика. Робочий об'єм біореактора зазвичай не перевищує 7/10 від загального об'єму.

За структурою потоків біореактори можуть бути апаратами повного перемішування або повного витіснення.

Конструктивні відмінності біореакторів визначаються в основному способами підведення енергії та перемішування:

- біореактори з підведенням енергії до газової фази (ФГ);
- біореактори з підведенням енергії до рідкої фази (ФЖ);
- біореактори з комбінованим підведенням енергії (ФЖГ).

Газові суміші, що використовуються в таких системах, можуть бути різного складу залежно від виду культивованих біологічних об'єктів. Наприклад, при зростанні анаеробних хемолітотрофних мікроорганізмів застосовують суміш вуглекислого газу і водню певного співвідношення.

Також існує класифікація біореакторів за способом перемішування, відповідно до якої використовують апарати з механічним, пневматичним і циркуляційним перемішуванням.

5.2. Аерувальні системи очищення стічних вод

5.2.1. Класифікація аеротенків

Аеротенк належить до гомогенних біореакторів. Типова конструкція біореактора є залізобетонною герметичною посудиною прямокутного перерізу, з'єднаною з відстійником. Аеротенк розділяється поздовжніми перегородками на декілька коридорів, зазвичай 3–4. Конструкційні відмінності різних типів аеротенків пов'язані в основному з конфігурацією біореактора, способом подання кисню, величиною навантаження. Типові схеми аеротенків подані рис. 5.1. Процес біоочищення в аеротенку складається з двох етапів. Перший етап полягає у взаємодії стічних вод, що відстоялися, містять близько 150–200 мг/л завислих частинок і до 200–300 мг/л органічних речовин, з повітрям і частинками активного мулу в аеротенку впродовж деякого часу (від 4 до 24 год і вище залежно від типу стоків, вимог до глибини очищення та ін.). На другому – відбувається розділення вод і частинок активного мулу у вторинному відстійнику. Біохімічне окиснення органічних речовин стоків в аеротенку на першому етапі реалізується двома стадіями: на першій мікроорганізми активного мулу адсорбують забруднювальні речовини стоків, на другій – окиснюють їх і відновлюють свою окиснювальну здатність.

Конструкції використовуваних аеротенків поділяють за способом подання стічних вод та їх потоком на три основні типи (рис. 5.1): витискувачі з «поршнеvim» потоком стічних вод, змішувачі з розосередженим або центральним поданням і випуском стічних вод та аеротенки проміжного типу.

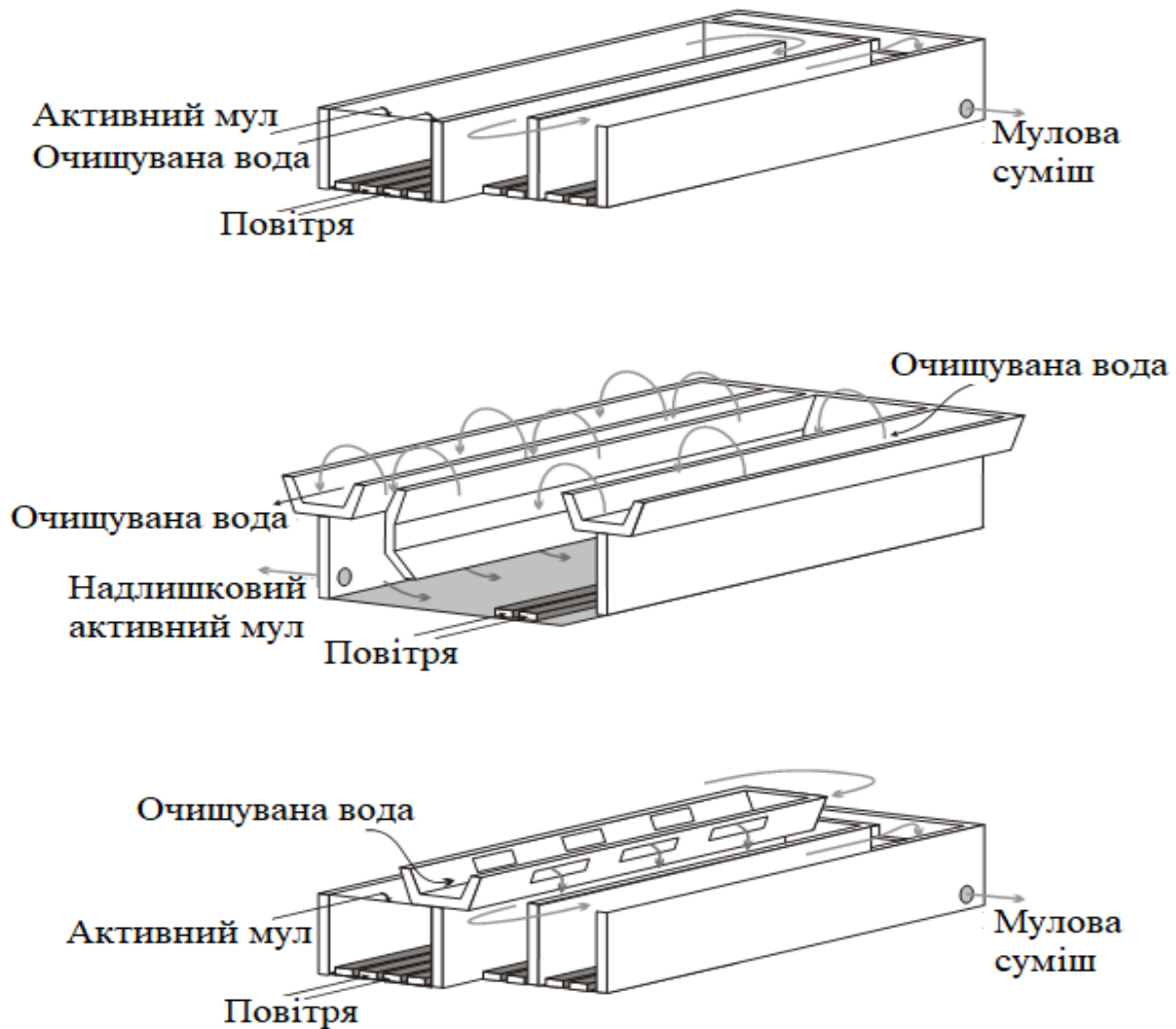


Рисунок 5.1 – Схеми аеротенків, зверху вниз: аеротенк витіснення, аеротенк змішування, аеротенк із розосередженим поданням стічної води та регенерацією активного мулу (Волова Т.Г., 1999)

До витискувачів відносять одно-, двокоридорні і т. д. аеротенки, в яких коридори відокремлені один від одного поздовжніми

напрямними перегородками, що не доходять до однієї з торцевих стін. У торцях аеротенка розміщені канали для впускання та відведення стічних вод. Залежно від геометричних розмірів у цих аеротенках у тому чи іншому ступені виконується умова повного витіснення потоку стічних вод. Особливістю процесу, що проходить в аеротенках-витискувачах, є зміна концентрації забруднювальних речовин у стічних водах і швидкості очищення по довжині аеротенка. Окиснювальний процес в аеротенках-витискувачах відбувається нерівномірно: на початку аеротенка – швидше, а в міру наближення до кінця і зменшення кількості субстрату – повільніше.

Аеротенки-витискувачі більш застосовні під час очищення стічних вод складного складу, що містять значну частку під час промислових скидів із концентрацією забруднювальних речовин за БСКп не більше ніж 500 мг/дм³.

В аеротенках-змішувачах порції стічної рідини, що надходить, майже миттєво перемішуються з усією масою очищеної стічної води та активного мулу, це дозволяє рівномірно розподіляти кисень і навантаження в органічних речовинах на активний мул (рис. 5.2).

У них забезпечується повне й швидке змішування стічних вод із масою активного мулу, в сталому режимі вони працюють із рівномірними швидкостями процесу очищення.

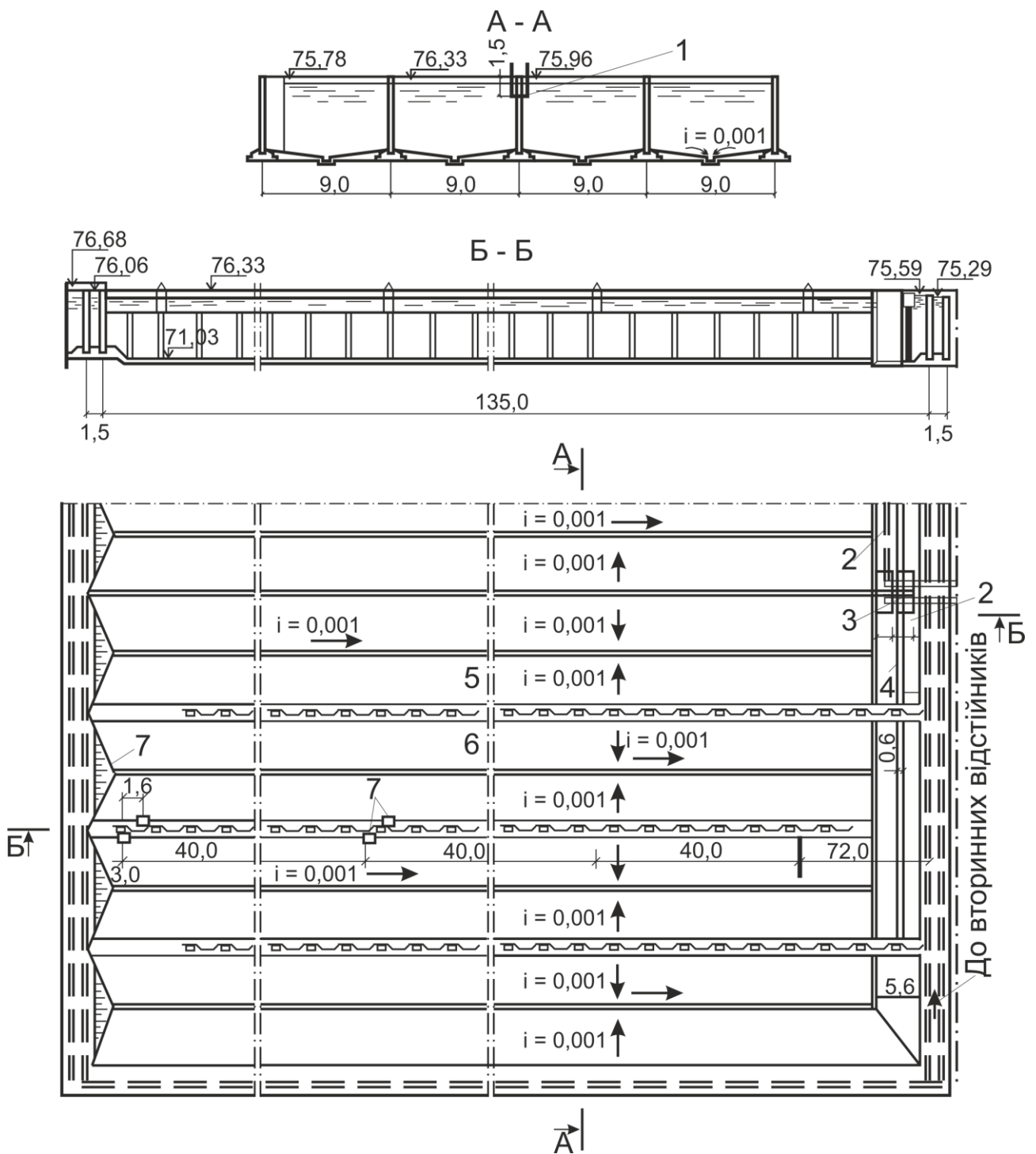


Рисунок 5.2 – Аеротенк-змішувач: 1 – розподільний лоток; 2 – трубопровід звільнення аеротенків і вторинних відстійників; 3 – камера засувки випорожнення; 4 – лоток активного мулу; 5 – регенератори; 6 – аеротенки; 7 – щитові затвори

Переважне використання аеротенків-змішувачів під час очищення висококонцентрованих промислових стічних вод, подібних за складом до побутових (харчові комбінати, пивні та рибні заводи), а також при нерівномірному припливі й залпових перевантаженнях, що часто виникають, було обґрунтоване професором Н. А. Базякіною в 1948 р. Проте під час використання змішувачів існує загроза розвитку спухання активного мулу, в будь-якому разі вони більш схильні до нього, ніж інші конструкції аеротенків унаслідок високих навантажень на активний мул в усьому об'ємі споруд.

До аеротенків проміжного типу відносять, наприклад, коридорні аеротенки з розосередженим по довжині поданням стічних вод і впусканням активного мулу на початок коридору.

Аеротенки поділяють також за видом використовуваної аерації на: аеротенки з механічною або (найбільш поширеною) пневматичною аерацією. Окиснення органічних забруднювальних речовин в аеротенках відбувається за рахунок життєдіяльності аеробних мікроорганізмів, що утворюють пластівчасті скупчення – активний мул. Частина органічних речовин, що безперервно надходить зі стічними водами, окиснюється, а інша – забезпечує приріст бактеріальної маси активного мулу. Велика насиченість стічних вод активним мулом і безперервне надходження кисню забезпечують інтенсивне біохімічне окиснення органічних речовин, тому аеротенки є однією з найбільш досконалих споруд для біохімічного очищення. Залежно від необхідного ступеня зниження вмісту органічних забруднювальних речовин аеротенки проектуються на повне біологічне (вміст в очищених водах БСК₅ – 20–25 мг/дм³,

NO_3 – не менше ніж $5,0\text{--}6,0 \text{ мг/дм}^3$) і часткове ($\text{БСК}_{\text{п}} > 25 \text{ мг/дм}^3$) очищення.

Широко відомі в практиці водоочищення коридорні аеротенки з фільтросними каналами складні щодо експлуатації, відрізняються громіздкістю. Крім того, чутливість цієї споруди до перевантажень різко знижує його застосовність для виробничих стічних вод. Резервуар обладнаний воздуховодами, з яких по стояках повітря подається в фільтросні канали, що закриті фільтросами - пористими шамотними або пластиковими пластинами. Їх закладають цементним розчином в залізобетонні канали, що влаштовуються в днище аеротенках уздовж довгої його сторони (рис. 5.3). Через такі пластини відбувається дріднопузирчаста аерація суміші в аеротенках.

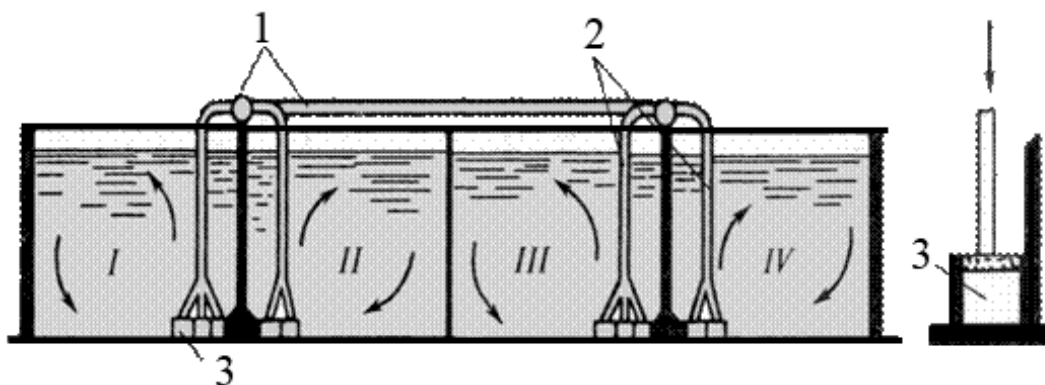


Рисунок 5.3 – Типовий чотирьохкоридорний аеротенк:

1 - повітровооди; 2 - стояки; 3 - фільтросні канал

Основним чинником, що розділяє аеротенки на високо- і низьконавантажені, є окиснювальна потужність, тобто кількість $\text{БСК}_{\text{п}}$ стічних вод, що знімаються 1 м^3 аеротенка за 1 добу. Зазвичай навантаження на мул при неповному біологічному очищенні становить від 500 до 2 000 мг/г за 1 добу, при повному біологічному очищенні стічних вод навантаження на мул коливається від 200 до

500, при меншому значенні можливий процес нітрифікації. У високонавантажуваних аеротенках процес очищення за 0,5–2 год, внаслідок цього гідравлічне навантаження становить більше ніж 20 м³/добу на 1 м³ споруди і добова нагрузка на мул за БСК_п – 0,9 кг/кг за ефективності 70–95 %. Високонавантажуваний мул складається на 80–85 % з органічної речовини, а мінералізований – на 60–65 %.

На практиці експлуатації аеротенків використовують дві характеристики седиментаційних властивостей активного мулу – доза мулу за об’ємом і муловий індекс. Доза мулу за об’ємом характеризує здатність активного мулу до осадження за 30 хв відстоювання. Орієнтовно дози мулу можна взяти згідно з таблицею 5.1.

Таблиця 5.1 – Орієнтовні значення дози мулу залежно від типу аеротенка і концентрації забруднювальних речовин (за БСК_п)

БСК _п стічної води, мг О ₂ /дм ³	Доза мулу, г/дм ³ , залежно від типу аеротенка		
	аеротенки без регенератора	аеротенки- відстійники	аеротенки з регенератором
До 100	1,2	3	–
100–150	1,5	3,4	–
150–200	1,8	3,7	$\alpha_{\text{аер}} \approx 1,5 \text{ г/л}$ $\alpha_{\text{рег}} \approx 4 \text{ г/л}$
Більше ніж 200	1,8–3	4–5	

Досить високі дози (6–8 г/дм³) можна підтримувати в аеротенках-відстійниках. Конструкційною особливістю цієї споруди є те, що аеротенк блокований із вторинним відстійником (рис. 5.4).

Недоліком багатьох існуючих конструкцій аеротенків-відстійників є нестабільність завислого шару мулу, фільтрувального у відстійній зоні, що залежить від коливань витрати і складу стічних вод.

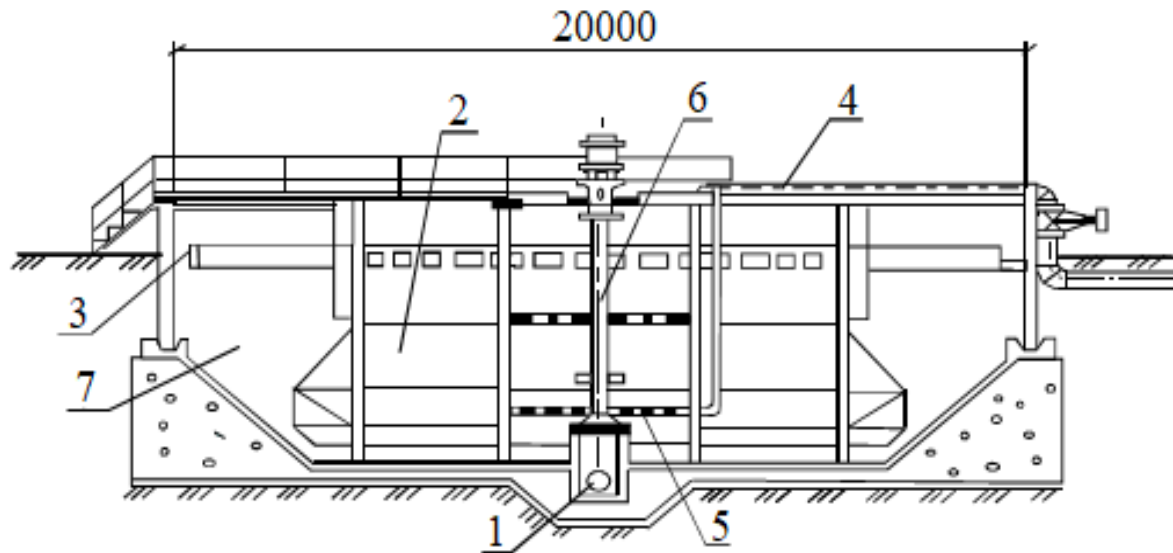


Рисунок 5.4 – Аеротенк-відстійник радіальний: 1 – трубопровід для подання стічних вод; 2 – зона аерації; 3 – лоток освітленої води; 4 – повітропровід; 5 – кільцевий перфорований аератор; 6 – диспергатор-мішалка; 7 – зона відстоювання

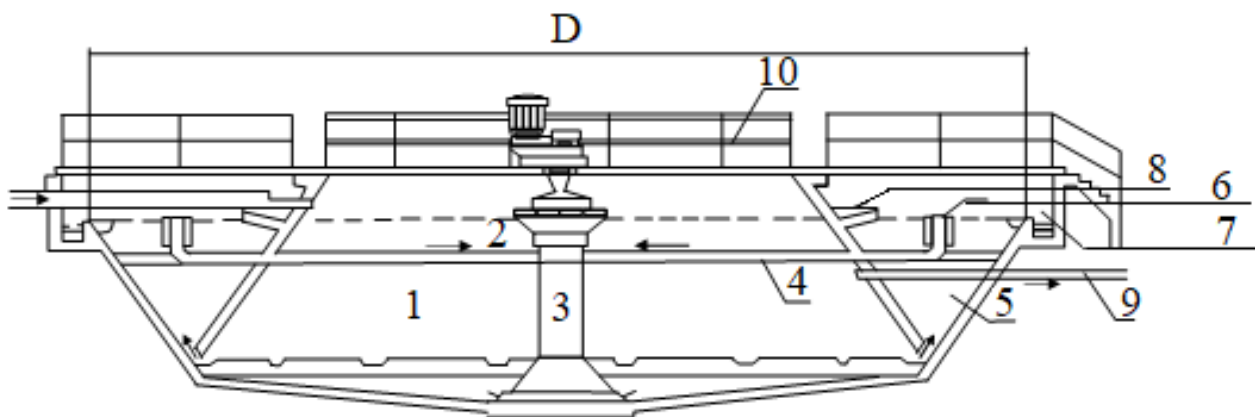


Рисунок 5.5 – Схема компактної установки на 1 500–3 500 осіб: 1 – зона аерації; 2 – аератор; 3 – підйомна труба; 4 – відвідна труба; 5 – зона відстоювання; 6 – відведення плаваючих речовин; 7, 8 – відвідний і подавальний жолоб відповідно; 9 – випускання надмірного активного мулу; 10 – місток обслуговування

Муловий індекс – це об'єм 1 грама сухого мулу, який він займає за 30 хв відстоювання в 1 дм³ циліндрі.

Муловий індекс також характеризує седиментаційні властивості мулу, але вже з урахуванням його сухої маси.

Під час оцінювання дози мулу за об'ємом вимагається відмічати результати вимірювання кожні 3 хв відстоювання для визначення плавності та рівномірності осадження, що є характеристикою хороших седиментаційних властивостей мулу, як і його здатність займати найменший об'єм після 30-хвилинного відстоювання.

Муловий індекс I (см³/г) розраховують після того, як одержані значення дози за сухою масою та об'ємом. Результат одержують діленням значень дози мулу за об'ємом V , см³/дм³, на кількісні значення дози мулу за сухою масою d , г/дм³:

$$I = \frac{V}{d}. \quad (5.1)$$

Активний мул осаджується швидко з утворенням зони освітлення (швидкість осадження 1 м за 1 годину і більше), плавно, добре ущільнюючись, не займаючи великого об'єму після остаточного ущільнення і не спливаючи після осадження впродовж 1,0–1,5 години.

Залежно від технічних можливостей своєчасного вивантаження осілого мулу з вторинних відстійників для кожного конкретного спорудження біологічного очищення оптимальними будуть свої певні значення мулового індексу.

Умовно прийнято вважати для очисних споруд з аеротенками оптимальними значення мулового індексу від 80 до 120 см³/г. Діапазон допустимих значень – від 60 до 150 см³/г.

Одне з основних вимог до мулового індексу – стабільність його значень, що свідчить про задовільні умови життєдіяльності мулу і задовільний режим експлуатації споруд (оптимальна кількість мулу видаляється із системи і підтримується нормальна доза зворотного мулу).

Час контакту активного мулу із забрудненими стічними водами визначається таким технологічним параметром, як період аерації, що обчислюється за формулою

$$T = \frac{W}{q}, \quad (5.2)$$

де W – об'єм аерувальних споруд, м³; q – часова витрата стічних вод, м³/год.

Тривалість періоду аерації передбачається під час проектування та обумовлюється складністю складу очищуваних промислових стічних вод. Чим складніший такий склад, тим триваліший контакт стічних вод із мулом потрібний для забезпечення глибокого окиснення складноокиснювальних забруднень.

5.2.2. Кисневий режим в аеротенках

Організми активного мулу є мікроаерофілами: для нормальної життєдіяльності їм потрібні малі кількості розчиненого кисню. Критичною концентрацією розчиненого кисню вважається 0,2 мг/дм³, цілком задовільною для мікроаерофілів – 0,5 мг/дм³ (Хаммер, 1979).

Проте активний мул «не терпить» покладів і при щонайменшому застої внаслідок порушення масообміну в пластівцях він починає гинути від власних метаболітів. Тому передбачені норми на вміст розчиненого кисню (не менше ніж 1,0–2,0 мг/дм³ у будь-якій точці аеротенка) припускають забезпечення інтенсивного перемішування мулової суміші з метою ліквідації покладів мулу. За концентрації розчиненого кисню, що перевищує максимально необхідну, критичну величину, міра активності мікроорганізмів не збільшується, і очищення не покращується. Тому для кожної очисної споруди встановлюється своя «критична концентрація» кисню, причому міра його поглинання визначається в основному характером і концентрацією забруднень. Побутові стоки – це відносно слабкий живильний розчин, і в ньому швидкість поглинання кисню перевищує швидкість поглинання поживних речовин, тому кисень рідко лімітований на спорудах, що очищають такі стічні води.

У концентрованих промислових стічних водах із високим умістом легкоокиснюваних органічних речовин швидкість поглинання бактеріями поживних речовин перевищуватиме швидкість поглинання кисню, що в цьому разі лімітований. Таким чином, необхідна міра аерації повинна насамперед ураховувати навантаження за забруднювальними речовинами, а не гідравлічні навантаження. Підвищення вмісту розчиненого кисню в аеротенках більше ніж 3,5–4,0 мг/дм³ мало впливає на ефективність біохімічного окиснення забруднювальних речовин, але дуже збільшує енергетичні затрати.

Погані аераційні умови для активного мулу можуть обумовлюватися такими причинами: скороченням кількості повітря, що подається, руйнуванням і засміченням елементів (фільтросних пластин, дірчастих труб, дрібнопухирчастих диспергаторів і т. ін.), що подають повітря; аерувальної зони і всіх ланок очищення; підвищенням питомих навантажень на активний мул за рахунок зростання вмісту розчинених органічних речовин у водах, що надходять на очищення; дією токсикантів на активний мул (токсиканти блокують дихальні ферменти в найпростіших і багатоклітинних організмів активного мулу або дихальні пігменти у бактерій); зростанням киснепоглинальності активного мулу через порушення режиму вивантаження осаду з вторинних відстійників; перевищенням оптимальної концентрації зворотного мулу (нестача кисню виникає при збільшенні біомаси активного мулу).

Поліпшення аераційних умов можна досягти налагодженням технологічного режиму експлуатації (можливості обмежені) та збільшенням відсотка використання кисню повітря активним мулом за рахунок зміни аерувальних елементів. При великопухирчастій аерації розмір отворів у трубах становить 5–6 мм, а використання кисню активним мулом при цьому – 6–7 %, що не створює ідеального масоперенесення розчиненого кисню з рідини у бактеріальну клітину. При зменшенні розміру отворів у трубах, що подають повітря, до 2–2,5 мм збільшується використання кисню до 8–12 %, а при застосуванні дрібнопухирчастих дифузорів (розмір отворів – 200–500 мкм) – до 15–18 %. Системи аерації, що застосовують в аеротенках, поділяють на три типи: пневматичну, механічну та комбіновану. У

процесі експлуатації необхідно робити розрахунки для оцінювання ефективності використовуваної системи аерації.

Подамо розрахунки для найчастіше застосовуваної пневматичної системи (механічної системи аерації розрахунки проводять за витратами електроенергії).

Витрату повітря на очищення 1 м³ стічних вод ($D_{1\text{м}^3}$, м³/м³) розраховуємо за формулою

$$D_{1\text{м}^3} = \frac{D_{\text{сер. доб}}}{Q_{\text{сер. доб}}}, \quad (5.3)$$

де $D_{\text{сер. доб}}$ – середньодобова витрата повітря, м³/доб; $Q_{\text{сер. доб}}$ – середньодобова витрата стічних вод, м³/доб.

Приклад

$$D_{1\text{м}^3} = \frac{21294\text{м}^3 / \text{добу}}{2340\text{м}^3 / \text{добу}} = 9,1\text{м}^3 / \text{м}^3.$$

Витрата повітря на очищення м³ стічних вод може становити від 3,5 до 15 м³/м³.

Витрату повітря на 1 кг знятої органіки, що характеризується показником БСК5 ($D_{\text{БСК}_5}$, м³/кг) розраховуємо за формулою

$$D_{\text{БСК}_5} = \frac{D_{1\text{м}^3}}{L_{\text{ПОСТ}} - L_{\text{ОЧИЩ}}}, \quad (5.4)$$

де $L_{\text{ПОСТ}}$ – вміст БСКп у стічних водах, що надходять на очищення, мг/дм³ або кг/м³; $L_{\text{ОЧИЩ}}$ – вміст БСК5 в очищених водах, мг/дм³ або кг/м³; $D_{1\text{м}^3}$ – витрата повітря на очищення 1 м³ стічних вод, м³/м³.

Приклад

$$D_{\text{БСК}_5} = \frac{9,1 \text{ м}^3 / \text{м}^3}{0,214 \text{ кг} / \text{м}^3 - 0,013 \text{ кг} / \text{м}^3} = 45,2 \text{ м}^3 / \text{кг}.$$

Витрата повітря на 1 кг знятої органіки, що характеризується показником БСК₅, у середньому становить від 30 до 55 м³/кг і може підвищуватися до 90 м³/кг під час очищення стічних вод на високонавантажуваних спорудах і досягати значних витрат до 120 м³/кг знятої БСК у процесі продовженої аерації.

Інтенсивність аерації J , м³/м² · год, розраховуємо за формулою

$$J = \frac{D_{\text{лм}^3 \cdot \text{H}}}{T}, \quad (5.5)$$

де J – глибина аеротенків або регенераторів, пісковловлювачів, мінералізаторів, м; T – період аерації, год.

Приклад

$$J = \frac{9,1 \text{ м}^3 / \text{м}^3 \cdot 4,4 \text{ м}}{7,5 \text{ год}} = 5,3 \text{ м}^3 / (\text{м}^2 \cdot \text{год}).$$

Інтенсивність аерації повинна бути достатньою для забезпечення як процесу насичення мулової суміші розчиненим киснем, так і процесу її перемішування.

Для того щоб розрахувати відсоток використання кисню повітря, необхідно врахувати загальне споживання кисню, витраченого на біохімічне окиснення органічних забруднювальних речовин, нітрифікацію та насичення киснем очищених стічних вод, що скидаються в природну водойму.

Подібні розрахунки можна провести враховуючи витрати повітря за продуктивністю повітродувок. Витрата повітря D_{l, m^3} (m^3/m^3) становитиме

$$D_{l, m^3} = \frac{N}{Q_{сер. доб}}, \quad (5.6)$$

де N – добова продуктивність повітродувок, $m^3/доб$; $Q_{сер. доб}$ – середньодобова витрата стічних вод, $m^3/доб$.

Витрата повітря на 1 кг знятої органіки, що характеризується показником БСК₅ ($D_{БСК_5}$, $m^3/кг$), розраховують за формулою

$$D_{БСК_5} = \frac{N}{L_{утил}}, \quad (5.7)$$

де $L_{утил}$ ($L_{утил} = L_{пост} - L_{очищ}$) – кількість утилізованої органіки, що характеризується показником БСК₅ за 1 добу, кг.

Приклад

За 1 добу витрата повітря становила 240 000 m^3 . Перероблено органіки за БСК₅ 4 000 кг, тоді

$$240000 \text{ м}^3 : 4000 \text{ кг} = 60 \text{ м}^3 \text{ на } 1 \text{ кг БСК}_5.$$

Інтенсивність аерації за формулою

$$J = \frac{D_1}{F_{аер. спор}}, \quad (5.8)$$

де D_1 – часова витрата повітря, $m^3/ч$; $F_{аер. спор}$ – площа водного дзеркала аерувальних споруд, m^2 .

Приклад

$$F_{\text{аер. спор}} = 2572 \text{ м}^2, D_1 = 10008 \text{ м}^3/\text{ГОД},$$

$$J = 10008 \text{ м}^3/\text{ГОД} : 2572 \text{ м}^2 = 3,89 \text{ м}^3/(\text{м}^2 \cdot \text{ГОД}).$$

Інтенсивність аерації на об'єм (W , м^3) аерувальних споруд при $W = 12\,860 \text{ м}^3$ становитиме

$$10008 \text{ м}^3/\text{ГОД} : 12860 \text{ м}^3 = 0,78 \text{ м}^3/(\text{м}^3 \cdot \text{ГОД}).$$

Розрахунок відсотка використання кисню повітря на 1 кг знятої органіки, що характеризується показником БСК₅, поданий таким прикладом.

Приклад

Використано 60 м^3 повітря на 1 кг БСК₅. Переведемо об'єм повітря в одиниці маси.

Маса 1 м^3 повітря за $t = 0 \text{ }^\circ\text{C}$ і тиску 760 мм рт. ст. становитиме $1,29 \text{ кг/м}^3$, тому маса 60 м^3 повітря буде

$$60 \text{ м}^3 \cdot 1,29 \text{ кг/м}^3 = 77,4 \text{ кг}.$$

У повітрі міститься 20,99 % кисню, звідси на 1 кг знятої органіки, що характеризується показником БСК₅, використано кисню

$$77,4 \text{ кг} \cdot 0,21 = 16,3 \text{ кг}.$$

Розрахуємо відсоток використання кисню повітря на 1 кг знятої органіки, що характеризується показником БСК₅:

$$\frac{1 \text{ кг}}{16,3 \text{ кг}} \cdot 100 \% = 6,13 \%$$

Щодобовий приріст (Pr , мг/дм^3), кількість мулу (за рахунок вилучення і засвоєння забруднювальних речовин із води), що знову

утворюється, для міських і близьких до них за складом виробничих стічних вод визначається за формулою

$$Pr = Q \cdot 0,8B_{осв} + 0,3L_{осв}, \quad (5.9)$$

де Q – середньодобовий об'єм очищуваних стічних вод, м³/добу; $B_{осв}$ – вміст завислих речовин в освітленій воді після первинних відстійників, мг/дм³; $L_{осв}$ – БСКп в освітлених водах після первинних відстійників у збовтаній пробі, мг/дм³.

Існує декілька формул розрахунку приросту мулу з урахуванням балансу біомаси, вони враховують витрату стічних вод, навантаження, швидкості накопичення біомаси, константу швидкості самоокиснювання мулу і т. д. Більш за все ці формули придатні лише для аеротенків-змішувачів, оскільки для аеротенків-витискувачів баланс підрахувати складно через зміни, що відбуваються в процесах у міру просування стічних вод від початку до кінця аеротенка. Пам'ятаємо про це, проте розраховуємо за однією з таких формул приріст мулу на спорудженнях м. Камишина з аеротенками-витискувачами:

$$Pr = Q \cdot Y (L_{ност} - L_{очищ}) \cdot 10^{-3} \text{ кг / г}, \quad (5.10)$$

де Pr – приріст активного мулу, кг/добу; Q – витрата стічних вод, м³/добу; Y – показник, що враховує швидкості перетворення утилізованої органіки на біомасу, кг/кг (можна в розрахунках ураховувати як безрозмірну величину); $L_{ност}$ – отримання органіки, що характеризується показником БСКп у стічних водах, які надходять на очищення, г/м³; $L_{очищ}$ – те саме в очищених стічних водах, г/м³; 10^{-3} кг/г – сталий коефіцієнт, що переводить г у кг.

Показник (Y , г/г), що враховує швидкість перетворення утилізованої органіки на біомасу, розраховують за формулою

$$Y = \frac{N}{1 + k_d \cdot B}, \quad (5.11)$$

де N – навантаження за БСК₅ на мул, кг/кг; B – вік мулу, діб; k_d – константа швидкості ендogenous окиснення, що становить від 0,025 до 0,075 доби, зазвичай береться в розрахунках 0,06 доби.

Для аеротенків-витискувачів правильнішим необхідно вважати результат, одержаний за формулою (5.9), хоча його потрібно прийняти меншим з урахуванням самоокиснювання мулу та його виносення з вторинних відстійників. Із наведених прикладів зрозуміло, що досконалих формул для розрахунку приросту мулу немає, в той самий час кількісна характеристика приросту дуже важлива під час експлуатації споруд, оскільки використовується для визначення об'єму біомаси, що видаляється, на оброблення та утилізацію. В експлуатації приріст мулу розраховують шляхом підсумовування мас мулу, що видаляється із системи, тобто що виноситься з очищеною водою і перекачуваного на мулоущільнювачі або в інші споруди з перероблення осаду, а також втраченого в процесі самоокиснювання. При цьому розрахункові значення приросту мулу використовують як орієнтовні.

Завдяки процесу регенерації мулу, якщо він задовільно забезпечується, відбуваються відновлення окиснювальних властивостей активного мулу та інактивація несприятливої дії на мул: токсикантів, інертних до біоокиснення, але акумульованих у мулі (метали, пестициди і т. д.); токсикантів повністю або частково

окиснюваних (нафтопродукти СПАР); біодоступних, але складноокиснюваних речовин, сорбованих на мулі (феноли та ін.).

Усі ці речовини або доокиснюються або депонуються та інактивуються в мулі в процесі регенерації. Механізм регенерації до кінця не з'ясований, проте зрозуміло, що за рахунок виключення процесу сорбції забруднювальних речовин на мулі (стічні води в регенератор не подаються), що надходять, і достатності кисню, що подається, відбуваються:

- відновлення блокованих токсикантами дихальних пігментів і ферментів мулу;
- депонування в біополімерному гелі інертних токсикантів;
- послідовний гідроліз і споживання складноокиснюваної органіки за рахунок продовженого часу перебування мулу в системі.

5.2.3. Рециркуляційний мул. Ступінь рециркуляції

Швидкість потоку стічних вод через спорудження біологічного очищення така, що досить значна частина активного мулу виноситься з очищеною водою у водойму. Винесення розраховується з урахуванням об'єму очищуваних стічних вод і кількості завислих речовин, наявних в очищеній воді. Для безперервного підтримання необхідної кількості біомаси активного мулу в аеротенках потрібна часткова рециркуляція – повернення біомаси з відстійника в аеротенк, що дозволяє забезпечити умови, коли швидкість розбавлення не перевищує швидкості зростання мікроорганізмів.

Об'єм зворотного мулу, що видаляється з вторинних відстійників і спрямовується в регенератор, становить від 30 до 70 %

від об'єму очищуваних стічних вод. Для кожної очисної споруди цей показник індивідуальний і визначається розрахунком як ступінь рециркуляції:

$$R = \frac{\alpha_{сер}}{\frac{1000}{I} - \alpha_{сер}} \cdot 100 \%, \quad (5.12)$$

де R – рециркуляційне відношення зворотного мулу до витрати очищуваних стічних вод; I – муловий індекс (визначається в пробі, відібраній у кінці зони аерації), $\text{см}^3/\text{г}$.

У формулі (5.12) коефіцієнт 1 000 переводить кубічні дециметри в кубічні сантиметри і має розмірність $\text{см}^3/\text{дм}^3$; $\alpha_{сер}$ – середня доза мулу, $\text{г}/\text{дм}^3$, що обчислюється з урахуванням дози за масою мулу в усіх коридорах аеротенків і регенераторів:

$$\alpha_{сер} = \frac{W_1 \cdot \alpha_1 + W_2 \cdot \alpha_2 + W_3 \cdot \alpha_3}{W_1 + W_2 + W_3}, \quad (5.13)$$

де W_1, W_2, W_3 – об'єми коридорів аеротенків і регенераторів, м^3 ; $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ – доза активного мулу в кожному коридорі, $\text{г}/\text{дм}^3$.

Приклад

$$R = \frac{2,0 \text{ г} / \text{дм}^3}{\frac{1000 \text{ см}^3 / \text{дм}^3}{100 \text{ см}^3 / \text{г}} - 2,0 \text{ г} / \text{дм}^3} \cdot 100 \% = 25 \%.$$

Величина R становить 25 % від загального об'єму очищуваних стічних вод.

Із наведеного прикладу бачимо, що, чим нижче середня доза мулу і вищий муловий індекс, тим більший об'єм мулу потрібно повертати в регенератори. Так, якщо зростають питомі навантаження на мул і погіршуються його седиментаційні властивості аж до

розпухання мулу, винесення мулу з вторинних відстійників збільшується, тобто збільшуються втрати мулу, тому необхідно повертати в систему максимальну кількість мулу. Якщо на спорудах підтримується менший відсоток рециркуляції, ніж розрахунковий, то мул у вторинних відстійниках переущільнюється і загниватиме, а в аеротенках зростуть питомі навантаження за рахунок низької концентрації мулу.

Якщо підтримується більший відсоток рециркуляції, підвищиться витрата енергії на перекачування мулу, а мул у вторинних відстійниках буде недоущільнений. І в тому, і в іншому випадках підвищиться винесення завислих речовин із вторинних відстійників і погіршиться якість очищення.

Для обчислення віку мулу (ВМ) запропоновані декілька формул (він виражається в будь-якому разі добою), найбільш використовувана з яких визначає вік як частку від загальної кількості мулу та його приросту за 1 добу:

$$BM = \frac{a_{сер} \cdot T}{ПМ \cdot 24} \cdot 1000, \quad (5.14)$$

де ПМ – приріст мулу, г/дм³; Т – період аерації, год; $a_{сер}$ – середня доза мулу, г/дм³; коефіцієнт 1 000 переводить грами в міліграми і має розмірність мг/г.

Якщо приріст мулу поданий у г/дм³, то у формулі (5.14) коефіцієнт 1 000 відсутній.

Приклад

Розрахунок віку мулу на БОС м. Ігнат'єва з витратою очищуваних стічних вод 95 170 м³/добу, середньою дозою активного мулу 1,1 г/дм³, періодом аерації 8,9 години, середньодобовим приростом мулу 114,04 мг/дм³, або 0,114 г/дм³.

$$BM = \frac{1,1 \text{ г/дм}^3 \cdot 8,95 \text{ год}}{0,114 \text{ г/дм}^3 \cdot 24 \text{ год/добу}} = 3,59 \text{ доби.} \quad (5.15)$$

Це означає, що на очисних спорудах м. Ігнат'єва за 1 добу оновлюється 27,8 % (100 % : 3,59 доби) активного мулу від загальної маси. Такий відсоток оновлення досить великий і досягається за рахунок низького віку мулу. Необхідно на спорудах, що працюють у режимі повного окиснення забруднювальних речовин і нітрифікації, оновлювати не більше ніж 12–13 % від загальної маси мулу.

Формула розрахунку віку мулу з урахуванням витрати надлишкового мулу набирає такого вигляду:

$$BM = \frac{\alpha_{сер} \cdot W}{(Q - q_{надл}) \cdot B + q_{надл} \cdot \alpha_{надл}}, \quad (5.16)$$

де W – об'єм аерувальних споруд, м³; Q – витрата стічних вод, м³/добу; $q_{надл}$ – витрата надлишкового мулу, м³/добу; B – уміст завислих речовин в очищеній воді після вторинних відстійників, кг/м³ або мг/дм³; $\alpha_{сер}$ – середня доза мулу, г/дм³ або кг/м³; $\alpha_{надл}$ – концентрація надлишкового мулу, мг/дм³ або кг/м³.

Із формули (5.16) випливає, що віком мулу можна керувати змінюючи витрату надлишкового мулу.

Приклад

Витрата надлишкового мулу на БОС м. Ігнат'єва дорівнює 3 200 м³/добу, вміст завислих речовин в очищених водах становить 10 мг/дм³ (10⁻² кг/м³), концентрація надлишкового мулу – 3 г/дм³ (3 кг/м³):

$$VM = \frac{1,1 \text{ г/дм}^3 \cdot 35500 \text{ м}^3}{(95170 \text{ м}^3 / \text{добу} - 3200 \text{ м}^3 / \text{добу} \cdot 10^{-2} \text{ кг/м}^3 + 3200 \text{ м}^3 / \text{добу} \cdot 3 \text{ кг/м}^3)} = 3,7 \text{ доби.}$$

Із наведених розрахунків можна зробити висновок, що доза активного мулу підтримується низькою, об'єм відвантажуваного мулу із системи вищий за оптимальний, унаслідок цього вік мулу сильно занижений для цих споруд. За проектом БОС м. Ігнат'єва вік мулу повинен бути вдвічі вищим.

У практиці експлуатації споруд біологічного очищення оптимальний вік активного мулу визначається не лише розрахунком, а й результатами спостережень за ефективністю очищення стічних вод в умовах підтримання різного віку.

5.2.4. Питомі навантаження для біологічного очищення споруд

З метою експлуатації часто доводиться розраховувати питомі навантаження (кількість забруднювальних речовин, що припадає на одиницю маси активного мулу) і навантаження за забруднювальними речовинами, які припадають на одиницю об'єму очищуваних вод.

Для обчислення навантажень використовують декілька формул. Наприклад:

1. Питоме навантаження на 1 г беззольної речовини активного мулу за БСК₅ (N_L , г/г за 1 добу):

$$N_L = \frac{L_{осв} \cdot Q_{сер} \cdot 100}{\alpha_{сер} \cdot X \cdot W}, \quad (5.17)$$

де $L_{осв}$ – БСК₅ у збовтаній пробі освітленої води (після первинних відстійників), мг/дм³; $Q_{сер}$ – середньодобовий приплив стічних вод, м³/добу; W – загальний об'єм усіх працюючих аеротенків і регенераторів, м³; X – беззольна речовина; 100 – зольність зворотного мулу; $\alpha_{сер}$ – середня доза активного мулу, г/дм³, обчислювана з урахуванням дози в усіх коридорах аеротенків і регенераторів.

2. Питоме навантаження на 1 г беззольної речовини активного мулу за завислими речовинами (N_B , г/г за 1 добу):

$$N_B = \frac{B_{осв} \cdot Q_{сер} \cdot 100}{\alpha_{сер} \cdot X \cdot W}, \quad (5.18)$$

де $B_{осв}$ – вміст завислих речовин у збовтаній пробі освітленої води, мг/дм³.

3. Питоме навантаження на 1 м³ аеротенка за органічними забруднювальними речовинами (N_W , г/м³ за 1 добу):

$$N_W = \frac{Q_{сер} \cdot L_{осв}}{W}. \quad (5.19)$$

4. Питоме навантаження за органічними забруднювальними речовинами на 1 м³ аеротенка з урахуванням періоду аерації (N_{WT} , г/м³ за 1 добу):

$$N_{WT} = \frac{Q_{сер} \cdot L_{осв}}{W} \cdot \frac{24}{T}, \quad (5.20)$$

де T – період аерації, год.

Формулу (5.20) рідко використовують на практиці, проте вона добре показує, що навантаження на одиницю об'єму і період аерації – взаємозв'язані параметри, що залежать від концентрації забруднювальних речовин у воді, яка надходить на очищення, і від об'єму аеротенків. Наприклад, якщо стічні води з концентрацією за БСК 200 мг/дм³ надходять в аеротенк із періодом аерації 24 год, то одержуване в результаті навантаження на одиницю об'єму становить 200 г БСК на м³/добу. Якщо період аерації скоротиться до 8 год, то навантаження на одиницю об'єму зросте втричі і становитиме 600 г БСК на м³/добу (Хаммер, 1979).

У таблиці 5.2 подані діапазони навантажень для деяких видів аераційних споруд.

Таблиця 5.2 – Діапазони навантажень на активний мул для аераційних споруд (за даними вітчизняних і зарубіжних дослідників)

Споруди й технологічні процеси	Тривалість аерації, год	Об'ємне навантаження, БСК _n /м ³ ·добу	Доза мулу, г/м ³	Навантаження на мул, кг БСК ₅ на 1 кг мулу за 1 добу	Вік мулу, доба/муловий індекс, см ³ /г
Низькі навантаження за забрудненням					
Аеротенк продовженої аерації	10–30	0,3–1,2	3–12	0,05–0,12	25–30
Циркуляційні окиснювальні канали	48–60	0,1	1–2	0,04–0,08	25–50/40–80
Аеровані стави	180–250	0,025	0,5	0,05	–/–
Середні навантаження за забрудненням					
Аеротенки звичайні	6–8	0,6	2–4	0,12–0,3	2–5/40–80
Аеротенки з регенерацією	5–6	1,5	2–4	0,5	–/–
Аеротенки високопродуктивні	3–5	2,5	3,5–8	0,3–0,5	–/–
Високі навантаження за забрудненням					
Швидкісна аерація	3,2–4	1,5	1,5–3,5	2–5	–/–
Модифікована аерація	3,4–4	1,5	1,5–3,5	2–5	0,5–2/80–200
Суперактивація	0,8–1	6	1,5–2	3,5–5	–/–

Для точнішої характеристики питомого навантаження з урахуванням беззольної речовини активного мулу, концентрації забруднювальних речовин, що характеризуються показником БСК, об'єму аераційних споруд і періоду аерації використовують характеристику питомого навантаження на 1 г беззольної речовини активного мулу за БСК5 з урахуванням періоду аерації (N_{LT} , г/г за 1 добу):

$$N_{LT} = \frac{Q_{сер} \cdot L_{осв} \cdot 100}{\alpha_{сер} \cdot X \cdot W} \cdot \frac{24}{T}. \quad (5.21)$$

5.3. Анаеробні системи перероблення відходів

5.3.1. Тенденції розвитку конструкцій біогазових установок

На цей час разом з удосконаленням методів аеробного біологічного очищення інтенсивно розвивається й технологія анаеробного оброблення, застосовувана в основному для висококонцентрованих стічних вод. Бурхливий розвиток анаеробної техніки пов'язаний із прагненням створювати компактні та ефективні апарати, що відрізняються надійністю і гнучкістю роботи, низькими капітальними, експлуатаційними й енергетичними витратами на очищення стічних вод.

Установки для біометаногенезу з урахуванням їх об'ємів і продуктивності можна поділити на декілька категорій: реактори для невеликих ферм сільської місцевості (1–20 м³); реактори для ферм розвинених країн (50–500 м³); реактори для перероблення промислових стоків (спиртова, цукрова промисловості) (500–

10 000 м³) і реактори для перероблення твердого сміття міських звалищ (1–20 · 10⁶ м³). Метантенки, виготовлені з металу або залізобетону, можуть мати різну форму, враховуючи кубічну й циліндричну. Конструкції та деталі цих установок дещо варіюють, в основному це пов'язано з типом перероблюваної сировини. Існує величезна різноманітність установок для реалізації процесу метаногенезу, конструкційні деталі та компонування яких визначаються пріоритетністю завдання, що вирішується в конкретному процесі: або це утилізація відходів та очищення стоків, або отримання біогазу необхідної якості. Так, серед установок, що діють у розвинених країнах, є як середні, так і великі за об'ємами апарати (дайджестери), забезпечені пристроями для очищення й компримування біогазу, електрогенераторами й очисниками води. Такі установки можуть входити до складу комплексів із промисловими підприємствами (цукроперероблювальними, спиртовими, молокозаводами), каналізаційними станціями або великими спеціалізованими фермами. Якщо основною метою процесу є утилізація відходів, то в складі установок повинен бути наявний блок для фракціонування і відділення великих твердих частинок. Метантенки можуть працювати в режимі повного перемішування, повного витіснення як анаеробні біофільтри або реактори з псевдозрідженим шаром, а також у режимі контактних процесів. Простою конструкцією метантенка є звичайна бродильна яма в ґрунті з фіксованим об'ємом газу.

Найбільш загальноприйнята класифікація анаеробних біореакторів ґрунтується на формі макроструктур метаногенної

біомаси в них, за якою біогазові установки поділяють на реактори із завислоседиментаційною та прикріпленою біомасою.

Анаеробні реактори другого покоління стали основними спорудами для очищення висококонцентрованих стічних вод, забезпечуючи ефективне очищення стоків у дуже широкому діапазоні концентрацій ($BCK_{повн} = 0,3-100$ г/л), із часом перебування води в апаратах від 30 хв. до 48 год. Анаеробний метод застосовують для очищення найрізноманітніших стічних вод і насамперед для целюлозно-паперової промисловості, виробництва цукру і пивоварних заводів.

Оброблення висококонцентрованих стічних вод в анаеробних умовах порівняно з аеробним очищенням дозволяє знизити капітальні витрати майже в 10 разів, розмістити споруди на значно меншій площі (приблизно в 10–20 разів). При цьому експлуатаційні витрати порівняно з аеробним очищенням знижуються практично втричі. Недоліки анаеробного методу, пов'язані з низькою швидкістю росту анаеробних бактерій, їх високою чутливістю до зміни рН, температури і коливань концентрацій забруднень у стічній воді, а також більш низька швидкість анаеробних процесів порівняно з аеробними успішно долаються безперечними достоїнствами сучасних анаеробних систем. Істотними перевагами анаеробного методу є зменшення кількості надмірного мулу (у 3–10 разів), його стабільність, а також можливість отримання додаткової енергії за рахунок біогазу, що утворюється.

Технологія анаеробного оброблення може бути реалізована в реакторах із завислоседиментаційною та прикріпленою біомасою. На

рисунку 5.6 наведена схема основних напрямів розвитку анаеробної техніки, пунктиром виділені типи апаратів, що розвиваються останнім часом.



Рисунок 5.6 – Класифікація сучасної анаеробної техніки

Найбільш загальноприйнята класифікація анаеробних реакторів ґрунтується на формі макроструктур метаногенної біомаси в них. За цим принципом усі конструкції можна поділити на реактори із завислоседиментаційною (мулом) і прикріпленою (біоплівкою) біомасою. Прикладом першого типу реакторів є традиційні метантенк, анаеробна лагуна, контактний реактор, UASB-реактор – із висхідним потоком рідини через шар анаеробного мулу, EGSB-реактор – із розширеним шаром гранульованого мулу, перегородковий реактор (ABR).

До другого типу відносять біофільтр із низхідним потоком (DSFF-реактор), реактор із псевдозрідженим шаром (AFB), дисковий обертювий біофільтр.

Ряд конструкцій – анаеробний фільтр із висхідним потоком (AF) і гібридний реактор (AF UASB) – поєднує елементи обох типів реакторів.

Септитенки – горизонтальні відстійники закритого типу, в яких осад твердих частинок, що утворився на дні, перегниває і розкладається анаеробними мікроорганізмами (рис. 5.7).

У септиках часто зброджують активний мул вторинних відстійників, осад первинних відстійників і піну з метою зменшення її об'єму, усунення поганого запаху й кількості патогенної мікрофлори. Осад витримують до 4–6 місяців. Унаслідок розкладання органічних речовин та ущільнення об'єм його зменшується до 50 %.

У метантенках на відміну від септитенків здійснюють перемішування, обігрівання, контроль основних параметрів (температури, складу сировини, інтенсивності завантаження апарата та ін.). Процес проходить більш інтенсивно, ніж у септиках. Біогаз, що виділяється, збирають та утилізують. Метантенки працюють зазвичай у періодичному режимі завантаження відходів або стічних вод із постійним відбором біогазу і вивантажують твердий осад у міру завершення процесу.

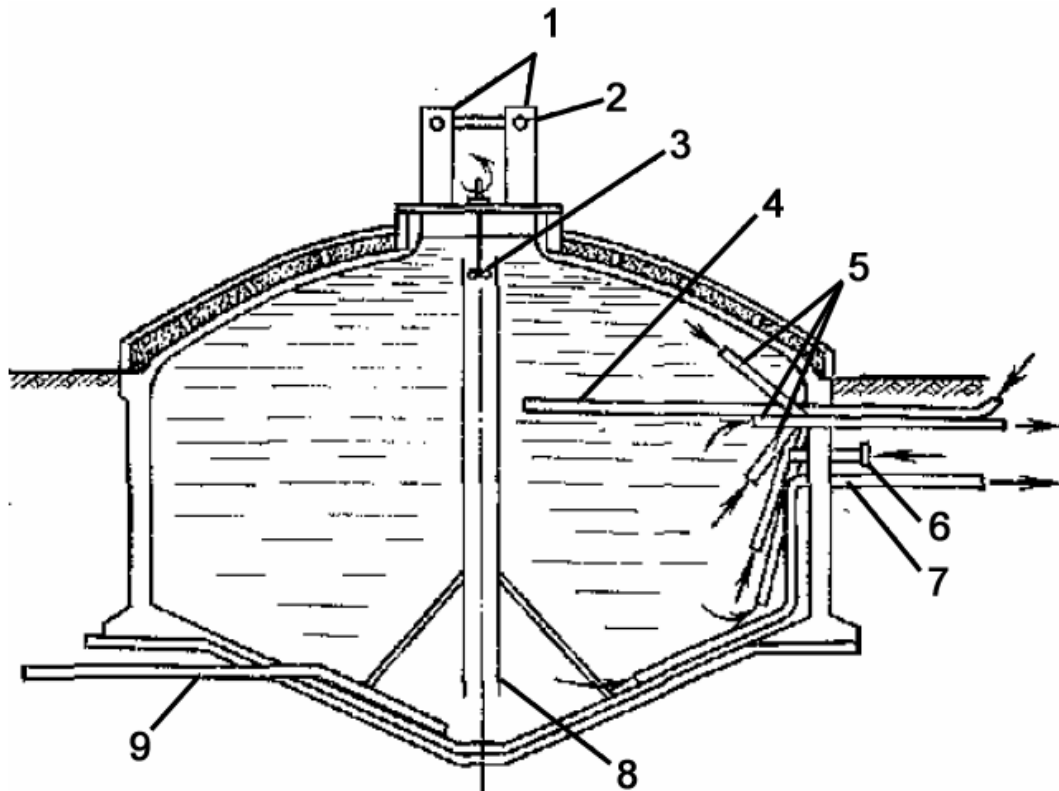


Рисунок 5.7 – Септитенк: 1 – газовий ковпак для збирання газу; 2 – газопровід від газового ковпака; 3 – пропелерна мішалка; 4 – трубопровід для завантаження (наприклад, сирого осаду та активного мулу); 5 – трубопроводи для видалення мулової води або вивантаження збродженого осаду з різних рівнів; 6 – інжектор подання гострої пари для підігрівання утримуваного метантенка і перемішування; 7 – трубопровід вивантаження суспензії твердофазових продуктів зброджування (наприклад, збродженого осаду); 8 – циркуляційна труба; 9 – трубопровід для спорожнювання метантенка

В анаеробних лагунах стабілізують відходи, використовуючи природні процеси (рис. 5.8).

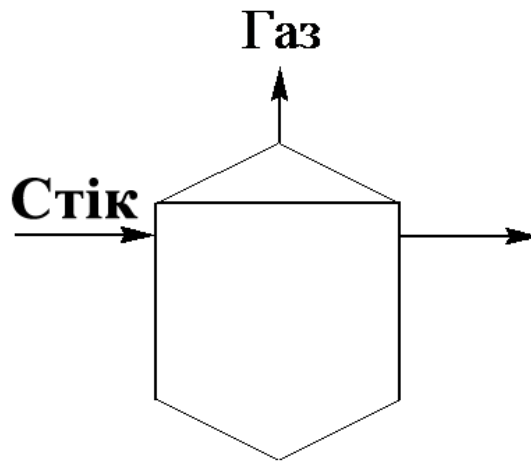


Рисунок 5.8 – Анаеробна лагуна

Контактний анаеробний реактор є аналогією аеротенкам з аеробною системою активізації мулу (рис. 5.9). Застосовують для очищення відносно розбавлених господарсько-побутових стоків зі значенням ХСК приблизно 1 300 мг/л.

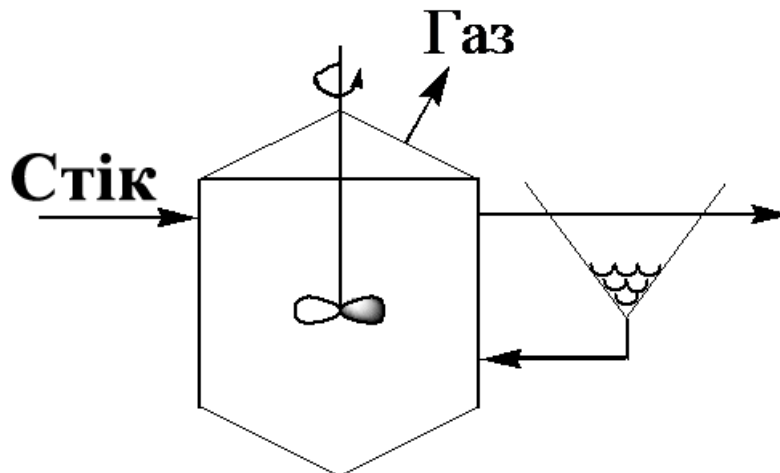


Рисунок 5.9 – Контактний реактор

Перегородковий реактор (рис. 5.10) є прямокутною місткістю, розділеною паралельними вертикальними перегородками на ряд відділень. Стік по черзі рухається знизу вгору і зверху вниз, проходячи в кожному відділенні, через шар гранул або флокул біомаси, що формується там.

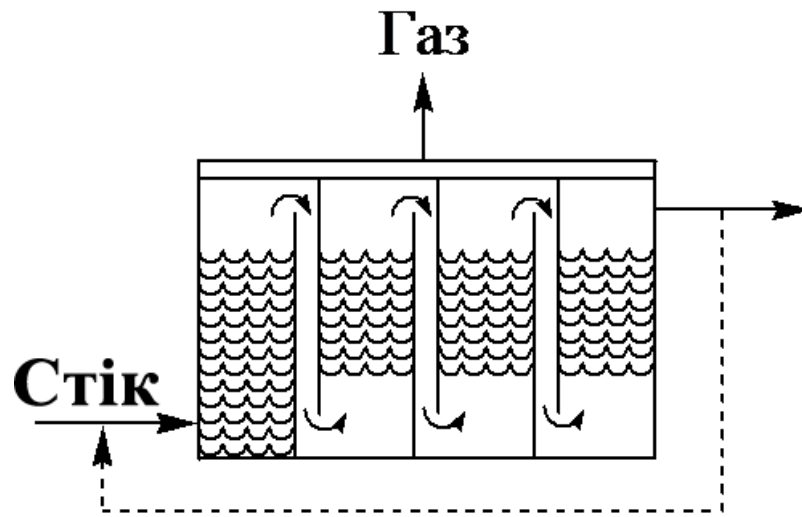


Рисунок 5.10 – Перегородковий реактор

Реактор із псевдозрідженим шаром (рис. 5.11) містить дрібнодисперсні середовища типу піску або гранульованого активованого вугілля, до яких прикріплені бактерії.

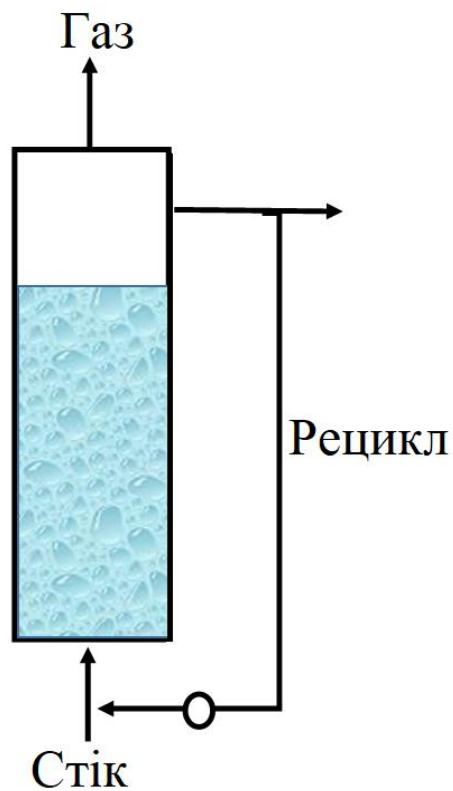


Рисунок 5.11 – Реактор із псевдозрідженим шаром

Відносно висока швидкість сходження стічної води примушує частинки носія підніматися до точки, де негативна плавучість носія дорівнює висхідній силі тертя об воду. Тоді реактор із псевдозрідженим шаром стабілізується. Зазвичай частина переробленого потоку повертається назад до припливу, щоб підтримати високу висхідну швидкість, навіть якщо норми потоку стічних вод низькі.

AF (Anaerobic Filter) – **анаеробний фільтр**. UAF (Upflow Anaerobic Filter) – анаеробний фільтр із висхідним потоком, був розроблений у лабораторії в кінці 60-х років ХХ ст. (Янг і Маккарті, 1969). Ця система подібна до зрошувального фільтра, в якому спочатку використовували кам'яний носій для закріплення біоплівки. Анаеробний фільтр використовували для очищення субстратів із ХСК від 375 до 12 000 мг/л, час його затримання – 4–36 годин (рис. 5.12).

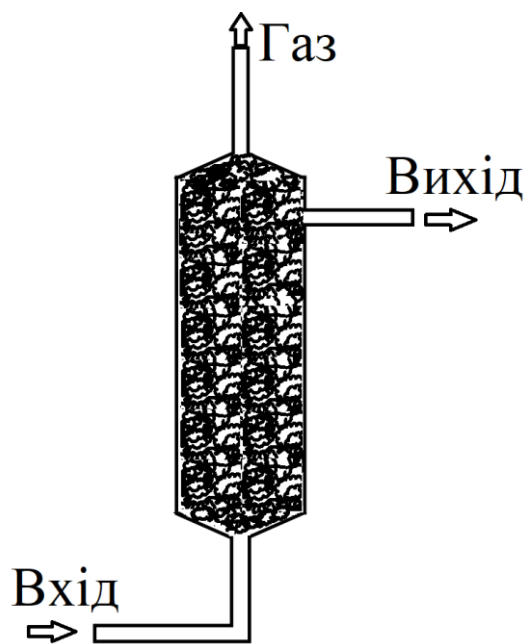


Рисунок 5.12 – Анаеробний фільтр

Розвиток анаеробної техніки походив від примітивних змішувачів, анаеробних контактних апаратів до анаеробних фільтрів і сучасних **UASB-** і **EGSB-реакторів**. У 70-х роках ХХ ст., досліджуючи процеси, що проходять в анаеробних реакторах другого покоління з висхідним потоком (AF), Леттінг із співробітниками виявили, що мікроорганізми, які входять до складу метанового угруповання, здатні при зростанні утворювати агрегати – щільні гранули розміром 1–3 мм, що легко осідають (Letting et al., 1980) (рис. 5.13).

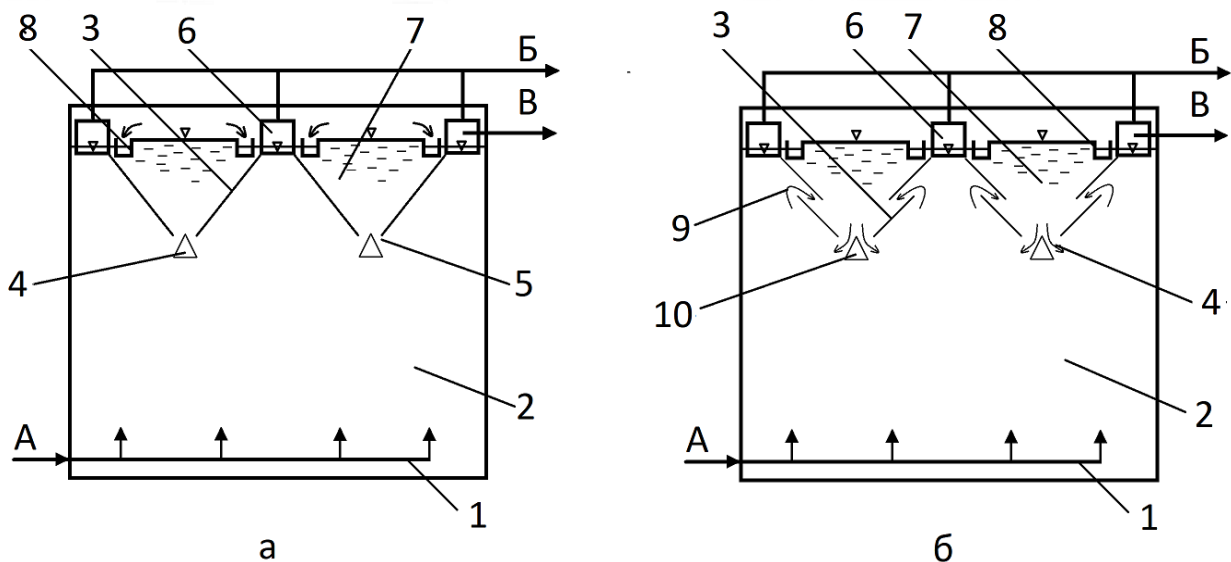


Рисунок 5.13 – Реактор із висхідним потоком рідини через шар анаеробного мулу UASB-реактора: а – проста конструкція; б – конструкція фірми «Biothane»; 1 – розподільна система; 2 – зона зброджування; 3 – газоспрямувальна перегородка; 4 – дефлектор; 5 – щілина (вхід у відстійну зону); 6 – газозбірний короб; 7 – відстійна зона; 8 – водозбірний лоток; 9 – окремий вхід у відстійну зону; 10 – окремий вихід із відстійної зони; А – початкова стічна вода; Б – біогаз; В – очищена стічна вода

В основному ці гранули складаються з метаногенів, насамперед роду *Methanosaeta*, що утворюють щільні хмизо- і клубкоподібні структури. Використовуючи відкритий ефект, Леттінг запропонував нову конструкцію реактора з висхідним потоком стічної води через шар анаеробного мулу.

У цій конструкції гранулювання мулу та його утримання зумовлені застосуванням спеціального вбудованого газомуло-віддільного пристрою, розміщеного у верхній частині реактора.

Явище гранулоутворення відбувається спонтанно в анаеробних реакторах із висхідним потоком стічних вод, що вміщують органічні речовини, які легко розкладаються (ЛЖК, цукри), за відсутності токсичних компонентів і підтримання оптимальних умов життєдіяльності бактерій-метаногенів. За наявності в стічних водах більшої кількості білкових забруднень потрібне інокулювання реактора гранульованим мулом, що інтенсифікує утворення гранул. Над нижнім шаром розміщується область інтенсивного турбулентного руху трифазової системи: рідини, мулу та газу. Концентрація мулу в ній становить 3–10 г/дм³. Між верхнім і нижнім шарами існує інтенсивний обмін частинками мулу. Перехід частинок мулу з нижнього шару у верхній проходить в основному внаслідок газліфтного ефекту, спричиненого висхідними потоками біогазу, а також у результаті флотації мулу. Висхідний потік ефективно розділяється в газовіддільному пристрої, що складається з конічних ковпаків газозбірників і напрямних перегородок-дефлекторів, що відділяють зону зброджування від зони освітлення. Швидкість руху води в UASB-реакторі – 0,5–2 м/год. Завдяки руху рідини та

утворюваних пухирців газу забезпечується перемішування всередині шару мулу, що сприяє проходженню процесу.

На поверхні поділу фаз під газозбірним ковпаком проходить відділення пухирців біогазу від висхідного потоку мулової суміші. Дегазований мул в основному повертається в зону зброджування. Стічна вода проходить у щілині між газозбірними ковпаками та дефлекторами і потрапляє у вбудовані відстійники, утворені зовнішніми поверхнями газозбірних ковпаків.

Основний напрям у розвитку та вдосконаленні анаеробних реакторів, так само як і в разі аеробних біореакторів, – пошук конструкцій, що забезпечують підтримування в апаратах високої дози активної біомаси. Найуспішніше це досягнуто в нових поколіннях UASB-, EGSB-реакторів, що використовують гранульований активний мул. Саме ці апарати останніми роками найбільше поширені у світі. Гранульований мул має високу активність, досить високу міцність гранул і хороші седиментаційні властивості. З цієї причини концентрація мулу в активній зоні апарата може досягати 50–80 кг/м³, через що можливе досягнення високих об'ємних навантажень. Проте гранульований мул утворюється не на всіх стічних водах, крім того, для його формування й зростання повинні додержуватися такі умови, як, наприклад, видалення завислих речовин, певний ступінь кислого зброджування, обмеження, пов'язані з часом перебування стічної води в апараті і т. д. Із реакторів із прикріпленою біомасою можливість підвищення дози вдало реалізована в реакторах із псевдозрідженим шаром завантаження. Конструкція EGSB-реактора подана рис. 5.14. Вони почали активно

завойовувати ринок і впроваджуватися в промислових масштабах у ряді європейських країн (рис. 5.15).

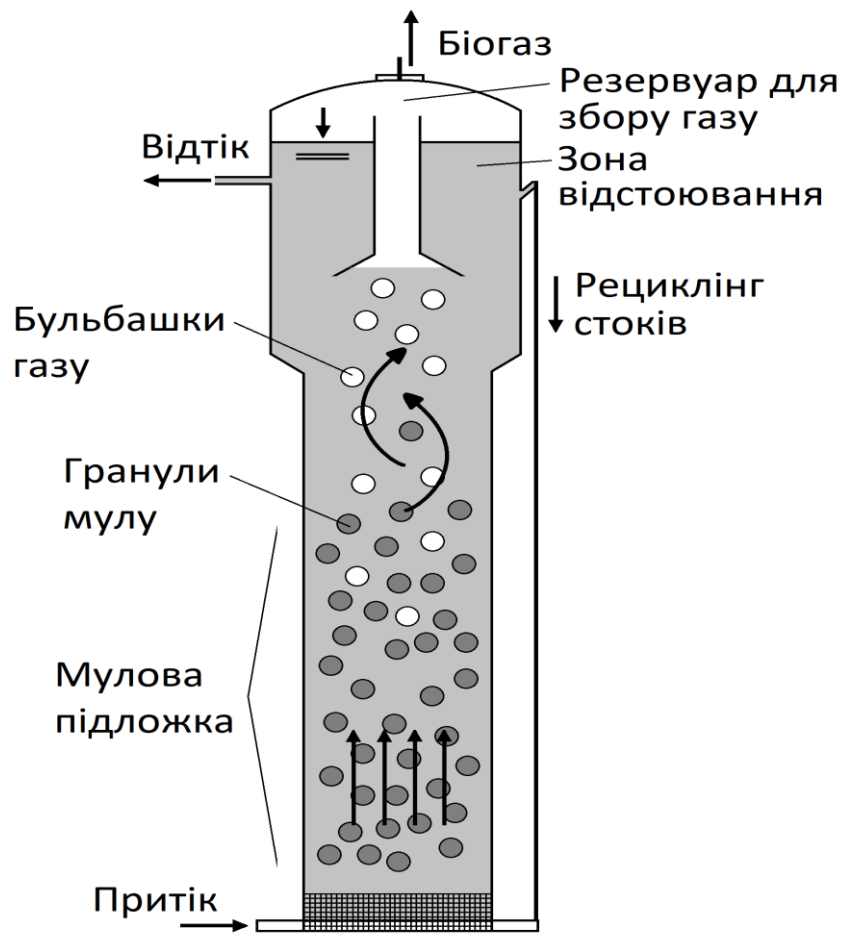


Рисунок 5.14 – Принципова схема EGSB-реактора

Основною відмінністю EGSB-реактора від UASB-реактора є більш висока швидкість висхідного потоку (5–12 м/ч), забезпечувана рециркуляцією стоку. EGSB-реактори найбільш поширені в Голландії. Застосування такої високої швидкості висхідного потоку зробило можливим оброблення низькоконцентрованих відходів різних галузей промисловості в широкому діапазоні температур.



Рисунок 5.15 – EGSB-реактор, пивоварна компанія
«Ланін Культа» (Фінляндія)

Проте нові покоління UASB-реакторів не поступаються своїми технологічними параметрами й ефективністю роботи EGSB-технології. UASB-технологія має такі переваги:

- регламентований гідродинамічний режим і бактеріальний склад активного мулу та ферментів забезпечують високу продуктивність UASB-реакторів;
- питома потужність анаеробного зброджування реактора (без ферментів-прискорювачів процесів бродіння) становить до 16 кг ХСК/м³ за 1 добу з тривалістю зброджування розчинених органічних забруднень упродовж 6–8 годин;
- цей технологічний процес дозволяє видалити близько 90 % маси органічного забруднення з концентрацією їх за ХСК на виході з біореактора в межах 1,5–3,0 г/дм³;

- реактор можна поділити на три різні частини: мулову основу, муловий шар, трифазовий віддільник;
- винахід UASB-реактора з потоком, що сходить через шар активного мулу, істотно поліпшив анаеробну метанізацію рідкої фракції;
- низький приріст біомаси за анаеробної метанізації рідкої фракції пояснюється малим енергетичним виходом реакцій, здійснюваних метановим біоценозом. Лише 8 % енергії витрачається на приріст біомаси, 3 % становлять теплові втрати і 89 % переходить у метан.

Конструкційні особливості UASB-реактора подані на рис. 5.16.

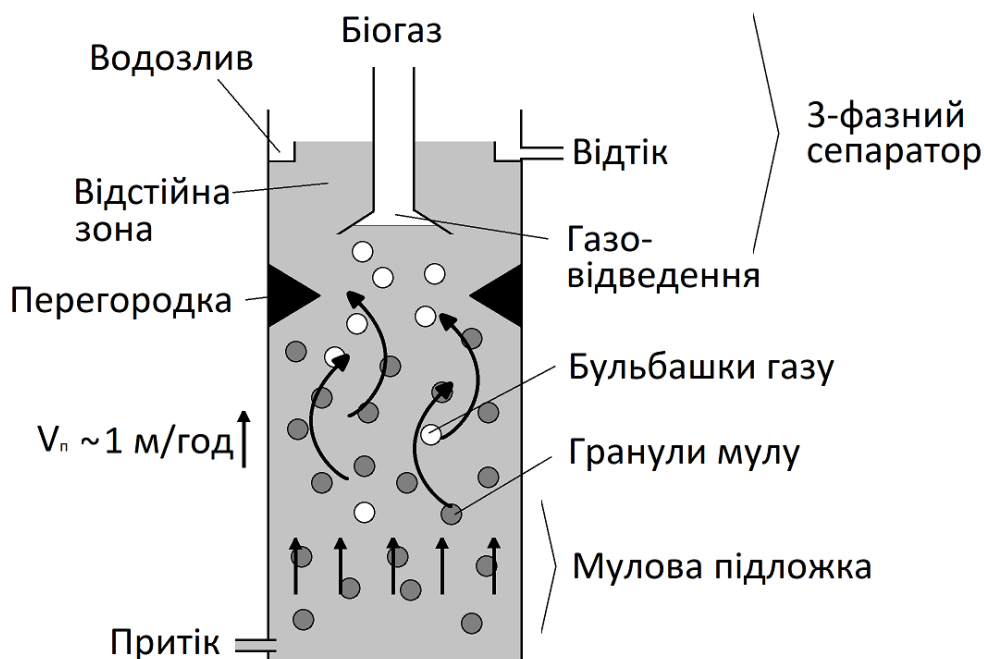


Рисунок 5.16 – Принципова схема UASB-реактора: $v_{п}$ – швидкість підняття потоку



Рисунок 5.17 – UASB-реактор, Shandong Jinhaosanyang Environmental Protection Equipment Co., Ltd. (Китай)

UASB-реактор конструкції, поданої на рис. 5.17, є розробкою Shandong Jinhaosanyang, Ltd. Це нова високотехнологічна компанія, що займається виготовленням устаткування для охорони довкілля. Ці установки застосовують у різних країнах світу: Новій Зеландії, Фінляндії, Нідерландах, Австралії і т. д.

У таблиці 5.3 подані найважливіші параметри основних конструкцій анаеробних апаратів для мезофільного режиму зброджування та їх порівняння з традиційним метантенком. Із таблиці 5.3 бачимо, що апарати з псевдозрідженим шаром завантаження працюють так само ефективно, як і апарати з гранульованим мулом.

Таблиця 5.3 – Найважливіші параметри основних конструкцій анаеробних апаратів

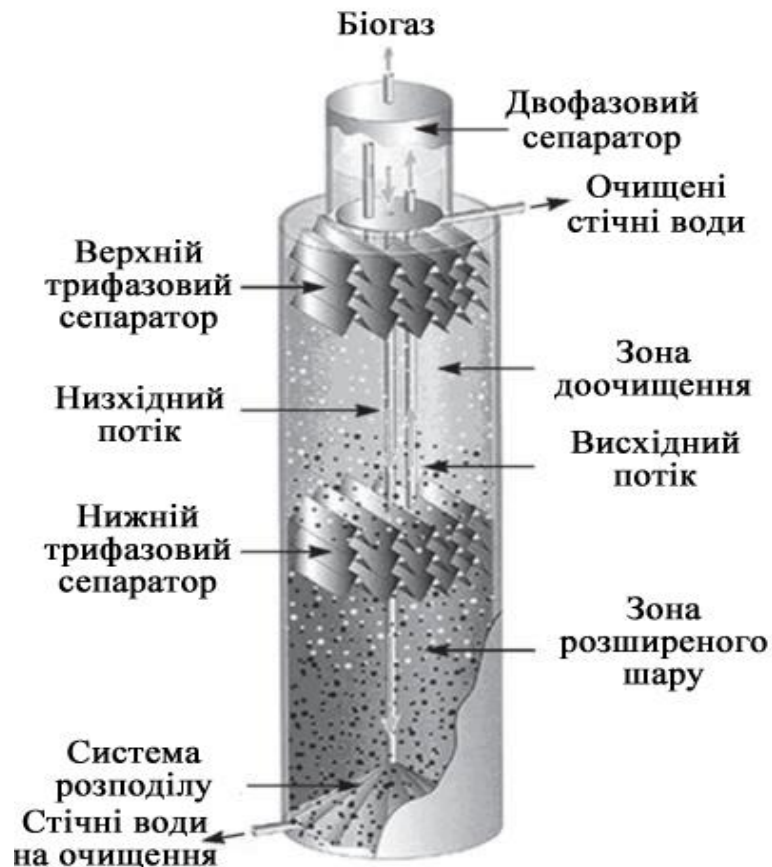
Реактор	Концентрація мулу в апараті, г/дм ³	Питома площа поверхні завантаження, м ² /м ³	Нижня межа концентрації за ХСК у стоці, г/дм ³	Об'ємне навантаження, кг ХСК/м ² · добу	Час затримання, год
Традиційний метантенк	0,5–3	–	10	0,5–5	192–240
Контактний	5–10	–	2–3	3–8	24
UASB	20–40	–	0,3	10–25	2–3
EGSB	25–40	–	0,3	30–40	1–2
Анаеробний біофільтр	5–20	70–300	0,3	10–15	8–12
DSFF	3–15	60–200	1–2	10–12	24
Гібридний	20–30	70–300	0,3	15–25	2–3
Із псевдозрідженим шаром	10–40	1 000–3 000	0,3	30–40	0,5

Біофільтр із висхідним потоком (AF). Біофільтр є першим анаеробним реактором із прикріпленою біомасою. Біомаса в біофільтрі утримується не лише у вигляді флокул і гранул, що містяться у порожнинах завантажувального матеріалу, а й у вигляді біоплівки, прикріпленої до поверхні носія. Оскільки рух потоків рідини та біогазу співспрямований, значного перемішування в реакторі не відбувається, а гідравлічний режим наближається до режиму ідеального витіснення. У сучасних установках як завантаження застосовують в основному площинні пластмасові вироби (раніше використовували такі об'ємні матеріали, як гравій, щебінь, шлак та ін.).

Гібридні реактори. Численними дослідженнями, проведеними у 80-ті роки ХХ ст., було переконливо показано, що для ефективного утримання біомаси в АФ-реакторі необов'язково заповнювати весь його об'єм завантажувальним матеріалом: достатньо шару завтовшки 25–40 % від робочої висоти реактора, розміщеного у верхній його частині. При цьому не лише економиться 60–75 % дорогого завантажувального матеріалу, а й повністю усуваються всі недоліки класичних анаеробних біофільтрів (замулювання нижніх шарів, проскакування забруднень). У реакторі біомаса формувалась як у нижній частині, і гранульований мул повністю відповідав біомасі UASB-реакторів, так і на поверхні та пустотах носія. Ці процеси призводять до зростання ефективності утримання флокульованого мулу. Як завантажувальний матеріал можна застосовувати активоване вугілля та інші плаваючі носії.

ІС-реактор здатний переробляти більшу кількість відходів за менших капітальних та експлуатаційних витрат. Завдяки цьому він особливо ефективний при очищенні висококонцентрованих стічних вод різного хімічного складу з умістом ХСК від 1 000 мг/л, зокрема стічних вод підприємств целюлозно-паперової промисловості. Для їх очищення за останні два десятиліття у світі запуснено більше ніж 130 біогазових установок. Переважно це комбіновані схеми з використанням UASB-реакторів на першому ступені та аеробного доочищення як завершального етапу. Для затримання біомаси в ІС-реакторі використані так звані трифазові сепаратори (рис. 5.18, 5.19). Вони мають невеликий розмір, високе навантаження за органічною речовиною. При ХСК 10 000–15 000 мг/дм³ за високої концентрації

органічних стічних вод UASB-реактор другого покоління має загальний об'єм завантаження 5–8 кг ХСК/м³; анаеробний ІС-реактор третього покоління – об'ємну швидкість завантаження 15–30 кг ХСК/м³.



Риунок 5.18 – Принципова схема ІС-реактора

Фактично ІС-реактор складається з двох UASB-реакторів, розміщених один над іншим. Нижній витримує високі навантаження за ХСК завдяки високій концентрації активних метанових гранул, верхній є менш навантаженим. Верхня частина служить в основному для затримання активних гранул усередині реактора й остаточного доочищення стічних вод та відділення біогазу.



Рисунок 5.19 – ІС-реактори, RAQUES BV (Нідерланди)

Особливість анаеробних реакторів цього виду – виділення газу двома стадіями. Біогаз, що виділився в першому умовному UASB-реакторі, створює ефект газліфта і тим самим викликає внутрішню циркуляцію субстрату. Остаточне відділення біогазу від очищеної рідини відбувається в двофазовому сепараторі. Рівень органічного завантаження для ІС-реактора зазвичай удвічі вищий, ніж для UASB-реактора.

В Україні устаткування подібного типу поки що не застосовують. Є відомості лише про установку, впроваджену однією з європейських фірм на підприємстві ТОВ «Рубіжанський картонно-тарний комбінат» (м. Рубіжне, Луганська обл.). Після запуску вона не вийшла на проектний режим: виробництво біогазу не перевищувало 1 000 м³/добу, а в зимові місяці практично припинялося. Обстеження роботи установки виявило значні коливання навантаження за ХСК

(від 600 до 4 000 мг/дм³), температури (від 15 до 38 °С), високий вміст сполук азоту (25 мг/дм³) і фосфору (15 мг/дм³).

Мікробіологічні дослідження метанових гранул, відібраних у період незадовільної роботи установки, показали, що вміст метаногенів у них менший ніж 1 %, а основну масу становлять кислотогенні мікроорганізми. Очевидно, через несприятливі умови експлуатації порушувалася симбіотична рівновага: невибагливі кислотогенні організми вижили, а метаногени, чутливі до коливань складу і кислотності стічних вод, температури, вмісту летких жирних кислот та ін., майже повністю загинули.

Мікроскопічний аналіз зразків гранул виявив велику кількість мінеральних включень на поверхні гранул (рис. 5.20).

Досвід експлуатації зарубіжних установок показав, що особливу увагу необхідно приділяти явищу осадження кальцію на поверхні метанових гранул, оскільки стічні води підприємств целюлозно-паперової промисловості характеризуються порівняно високою жорсткістю.

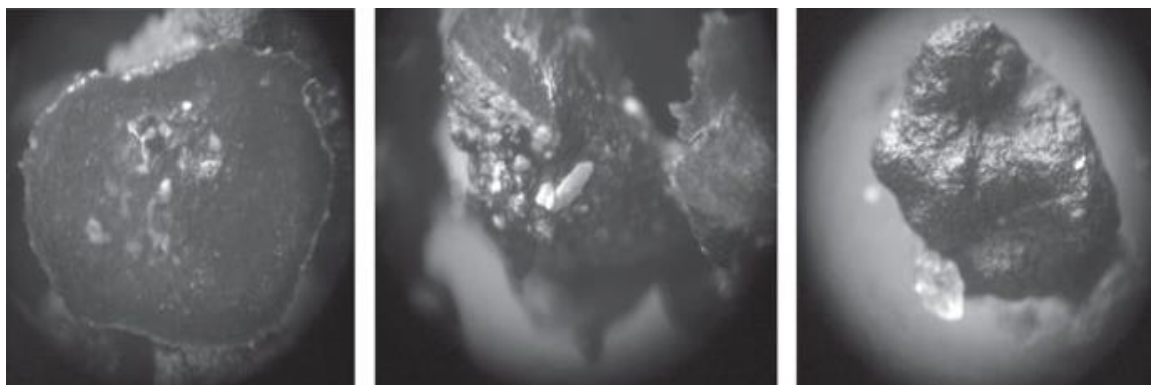


Рисунок 5.20 – Мікроскопування гранул активного мулу

Іони кальцію стимулюють метаногенову активність анаеробного мулу з концентрацією 100–200 мг/дм³ та інгібують її за концентрації

більшої ніж 250 мг/дм³. Відомі випадки, коли за жорсткості більшої ніж 500 мг/дм³ UASB-реактори не виходили на проектний режим через осадження CaCO₃ на гранулах.

Стічні води Рубіжанського картонно-тарного комбінату містять близько 300 мг/дм³ іонів кальцію. Через нестабільну роботу установки солі кальцію відкладалися на поверхні гранул, і змінилися седиментаційні характеристики мулу.

Для відновлення гідродинамічних властивостей гранул застосована зовнішня рециркуляція очищених стічних вод у реакторі біогазової установки. Це дозволило зменшити концентрацію іонів кальцію на вході в апарат і підтримувати активний мул у завислому стані.

У результаті продуктивність установки за біогазом досягла проектної (1 700 м³/добу), а концентрація метану в ньому – 90 %. Ступінь очищення за ХСК становила 85 %, за БСК – 90 %.

5.3.2. Параметри оптимізації процесу отримання біогазу

Для вироблення біогазу можливе використання таких органічних матеріалів. У дужках зазначений розмір вироблення біогазу в м³ на 1 тонну сирого матеріалу: рідкий гній, твердий компост (20–70); біологічні відходи, зібрані на фермах (100–200); вторинна (повторно вирощена) сировина (кукурудзяний силос, нехарчові зерна); нечистоти і жир стічних вод (80–150); старий жир (1 000); трава та біологічні відходи від ферм із забою великої рогатої худоби (100); відходи пивоварних заводів і дистиляторів (20); відходи складів для зберігання фруктів і вина, молочних ферм (25).

Для початку процесу зброджування достатньо забезпечити такі умови:

1. Підтримання анаеробних умов у реакторі

Підтримання оптимальної температури є одним із найважливіших чинників процесу зброджування. У природних умовах утворення біогазу відбувається за температур від 0 до 97 °С, але з урахуванням оптимізації процесу перероблення органічних відходів для отримання біогазу і біодобрив виділяють три температурні режими: психрофільний, мезофільний і термофільний.

2. Доступність поживних речовин

Для зростання і життєдіяльності метанових бактерій потрібна наявність у сировині органічних та мінеральних поживних речовин. На додаток до вуглецю і водню створення біодобрив вимагає достатньої кількості азоту, сірки, фосфору, калію, кальцію, магнію і деякої кількості мікроелементів – заліза, марганцю, молібдену, цинку та ін.

3. Час зброджування

Оптимальний час зброджування залежить від дози завантаження реактора і температури процесу зброджування. Якщо час зброджування вибрано занадто коротким, то під час вивантаження шламу бактерії з реактора вимиваються швидше, ніж можуть розмножуватися, і процес ферментації практично припиняється. Занадто тривала витримка сировини в реакторі не відповідає завданням одержання найбільшої кількості біогазу і біодобрив за певний проміжок часу.

При визначенні оптимальної тривалості зброджування користуються терміном «час оборту реактора». Час оборту реактора – це час, упродовж якого свіжа сировина, завантажена в реактор, переробляється, та її вивантажують із реактора.

Для систем із безперервним завантаженням середній час зброджування визначається відношенням об'єму реактора до щоденного об'єму завантажуваної сировини. На практиці час оборту реактора вибирають залежно від температури зброджування і складу сировини в таких інтервалах:

- психрофільний температурний режим: від 30 до 40 і більше діб;
- мезофільний температурний режим: від 10 до 20 діб;
- термофільний температурний режим: від 5 до 10 діб.

Добова доза завантаження сировини визначається часом оборту реактора і збільшується (як і вихід біогазу) зі збільшенням температури в реакторі.

Вибір часу зброджування залежить також від типу перероблюваної сировини. Для наступних видів перероблюваної сировини в умовах мезофільного температурного режиму час, за який виділяється найбільша частина біогазу, дорівнює приблизно:

- рідкий гній КРС: 10–15 днів;
- рідкий свинячий гній: 9–12 днів;
- рідкий курячий послід: 10–15 днів;
- гній, змішаний із рослинними відходами: 40–80 днів.

4. Кисотно-лужний баланс

Метанопродуковані бактерії найкраще пристосовані для існування в нейтральних або злегка лужних умовах. У процесі

метанового бродіння другий етап виробництва біогазу є фазою активної дії кислотних бактерій. У цей час рівень рН знижується, тобто середовище стає більш кислим.

Проте за нормального ходу процесу життєдіяльність різних груп бактерій у реакторі проходить однаково ефективно, і кислоти переробляються метановими бактеріями. Оптимальне значення рН коливається залежно від сировини від 6,5 до 8,5.

5. Вміст вуглецю й азоту

Одним із найбільш важливих чинників, що впливають на метанове бродіння (виділення біогазу), є співвідношення вуглецю і азоту в сировині, що переробляється. Якщо співвідношення C/N надмірно велике, то недолік азоту є чинником, що обмежує процес метанового бродіння. Якщо ж це співвідношення занадто мале, то утворюється така велика кількість аміаку, що він стає токсичним для бактерій.

Мікроорганізми потребують як азоту, так і вуглецю для асиміляції в їх клітинну структуру. Різні експерименти показали: вихід біогазу найбільший за рівня співвідношення вуглецю й азоту від 10 до 20, де оптимум коливається залежно від типу сировини. Для досягнення високої продукції біогазу практикується змішування сировини для досягнення оптимального співвідношення C/N.

6. Вибір вологості сировини

Безперешкодний обмін речовин у сировині є передумовою для високої активності бактерій. Це можливо лише в тому разі, якщо в'язкість сировини допускає вільний рух бактерій і газових пухирців

між рідиною й твердими речовинами, що містяться в ній. У відходах сільськогосподарського виробництва є різні тверді частинки.

Тверді частинки, наприклад, пісок, глина та інші, обумовлюють утворення осаду. Більш легкі матеріали піднімаються на поверхню сировини та утворюють кірку. Це призводить до зменшення утворення біогазу. Тому рекомендується ретельно подрібнювати перед завантаженням у реактор рослинні залишки (солому та ін.) і тяжіти до відсутності твердих речовин у сировині.

7. Регулярне перемішування

Для ефективної роботи біогазової установки і підтримання стабільності процесу зброджування сировини всередині реактора потрібне періодичне перемішування. Основними цілями перемішування є: вивільнення одержаного біогазу; перемішування свіжого субстрату і популяції бактерій (щеплення); запобігання формуванню кірки й осаду; відвернення ділянок різної температури всередині реактора; забезпечення рівномірного розподілу популяції бактерій; запобігання формуванню порожнеч і скупчень, що зменшують ефективну площу реактора.

Перемішування може бути постійним або періодичним залежно від режиму роботи реактора. Оптимальний режим перемішування значно зменшує час зброджування сировини й запобігає утворенню кірки. Хоча часткове перемішування відбувається внаслідок вивільнення із сировини біогазу, температурного руху і в результаті надходження свіжої сировини, але такого перемішування недостатньо.

Перемішування необхідно проводити регулярно. Занадто рідке перемішування сировини призведе до розшарування сировинної маси й утворення кірки, знижуючи тим самим ефективність газоутворення. Добре перемішувана сировина може дати на 50 % більше біогазу. Занадто часте перемішування може пошкодити ферментативним процесам усередині реактора. Так, потрібно враховувати, що процес зброджування симбіозом між різними штамми бактерій, тобто бактерії одного виду можуть жити інший вид. Якщо угруповання розбивається, процес ферментації буде непродуктивним до того часу, поки утвориться нове угруповання бактерій. Це може призвести до вивантаження неповністю переробленої сировини. Рекомендується повільно перемішувати сировину через кожні 4–6 годин.

8. Інгібітори процесу

Зброджувана органічна маса не повинна містити речовини (антибіотики, розчинники і т. п.), що негативно впливають на життєдіяльність мікроорганізмів, вони уповільнюють, а іноді й припиняють процес виділення біогазу. Не сприяють «роботі» мікроорганізмів і деякі неорганічні речовини.

На кожного з різних типів бактерій, що беруть участь у трьох стадіях метаноутворення, ці параметри впливають по-різному. Існує також тісна взаємозалежність між параметрами (наприклад, вибір часу зброджування залежить від температурного режиму), тому складно визначити точний вплив кожного чинника на кількість біогазу, що утворюється. У таблиці 5.4 подана порівняльна характеристика анаеробного й аеробного оброблення.

Таблиця 5.4 – Порівняльний аналіз ефективності роботи аеробних та анаеробних реакторів

Анаеробний реактор	Аеробний реактор
1	2
1. Стійкість до високих концентрацій органічних речовин (задовільно працюють при БСК більше ніж 1 000 мг/л)	1. Стійкість до високих концентрацій органічних речовин (працюють за БСК до 100 мг/л)
2. Стійкість до непостійної подачі та складу стічних вод	2. Чутливість до непостійної подачі та складу стічних вод
3. Стійкість до нестачі біогенних елементів у стічній воді	3. Чутливість до нестачі біогенних елементів у стічній воді
4. Низький приріст мулу порівняно з аеробними реакторами (менший у 10 разів)	4. Проблема утилізації утвореного надлишкового мулу
5. Невисокі експлуатаційні витрати (економія електричної енергії на мішалках)	5. Високі експлуатаційні витрати (необхідність аерації)
6. Одержання біогазу	6. Відсутній
7. Висока стійкість до токсикантів та здатність до відновлення працездатності	7. Невисока стійкість до токсикантів і низька здатність до відновлення працездатності
8. Високий енергетичний рівень кінцевого продукту	8. Низький енергетичний рівень кінцевого продукту
9. Невисока швидкість проходження процесів	9. Висока швидкість проходження процесів
10. Низький приріст біомаси (при першому запуску)	10. Високий приріст біомаси (при першому запуску)
11. Середній ступінь очищення за БСК (60–90 %)	11. Високий ступінь очищення за БСК (95 %)

Продовження таблиці 5.4

1	2
12. Не вилучають азот і фосфор	12. Вилучаються азот і фосфор
13. Витрати на герметизацію, підігрівання	13. Відсутні
14. Вибухонебезпечний	14. Відсутній
15. Утворення сульфідів	15. Відсутній
16. Низький виграш у біологічно використовуваній енергії	16. Високий виграш у біологічно використовуваній енергії
17. Немає саморозігрівання осаду (необхідне підведення тепла)	17. Саморозігрівання осаду
18. Піноутворення відсутнє	18. Високе піноутворення з концентруванням у верхньому шарі сполук сірки, впухання мулу

5.3.3. Розрахунок основних параметрів роботи біогазових установок

При технологічному розрахунку біогазових установок (метантенків) повинні бути визначені такі основні параметри:

- концентрація сухої беззольної речовини завантажуваного в метантенк осаду S , кг/м³;
- температура зброджування t , °С;
- навантаження на метантенк за сухою беззольною речовиною d , кг/(м³ · добу);
- гідравлічний час перебування осаду в метантенку (тривалість зброджування) τ , доба;
- питомий вихід біогазу на одиницю маси сухої беззольної речовини завантаження B_{nut} , м³/(кг · добу);

- швидкість виходу біогазу b/τ , $\text{м}^3/(\text{м}^3 \cdot \text{добу})$;
- необхідний робочий об'єм метантенка V , м^3 ;
- загальний вихід біогазу $B_{\text{заг}}$, $\text{м}^3/\text{добу}$.

Для інженерних розрахунків значний інтерес становить модель Конто, вживана для математичного опису процесу анаеробного зброджування ряду органічних відходів:

$$\overline{b/\tau} = \overline{B} \cdot (S/\tau) \left(1 - \frac{K}{\mu_m \tau - 1 + K} \right), \quad (5.22)$$

де $\overline{b/\tau}$ – швидкість виходу метану, $\text{м}^3\text{CH}_4/(\text{м}^3 \cdot \text{добу})$; \overline{B} – граничний вихід метану на одиницю маси завантаженої в метантенк органічної речовини при нескінченно великій тривалості процесу, $\text{м}^3\text{CH}_4/\text{кг}$; S – концентрація органічної речовини в завантажуваному осаді, $\text{кг}/\text{м}^3$; τ – тривалість зброджування, доба; $K = f(S)$ – кінетичний параметр процесу.

Максимальна питома швидкість зростання біомаси залежить від температури зброджування і розраховується за формулою

$$\mu_m = 0,013 \cdot t - 0,129_{\text{добу}}^{-1}, \quad (5.23)$$

де t – температура зброджування, $^{\circ}\text{C}$.

Як бачимо з виразу (5.22), швидкість виходу метану залежить від концентрації органічної речовини S у початковому субстраті. Концентрація органічної (сухої беззольної) речовини в осіданні,

кг/м³, залежить від вологості W , зольності на суху масу A та об'ємної густини осаду $\rho_{об}$:

$$S = \rho_{об}(100 - W) \cdot (100 - A) \cdot 10^{-4}. \quad (5.24)$$

Як зазначалося вище, зольність осаду впливає на межу зброджування. Процес анаеробного зброджування осадів залежить від масового співвідношення води G_v й органічної речовини $G_{орг}$ у початковому осаді. Після перетворень можна записати

$$G_v/G_{орг} = W \rho_{об}/S. \quad (5.25)$$

Межа зброджування осаду залежить від хімічного складу органічних речовин, що входять до нього. Як відомо, об'ємна густина осаду $\rho_{об}$ залежить від його істинної густини $\rho_{іст}$, яка, у свою чергу, залежить від густини мінеральної ρ_m , органічної $\rho_{орг}$ частини сухої речовини осаду. Сухий осад внаслідок його горючості можна розглядати як тверде паливо. Тому справедливо густину органічної речовини осаду визначати як для твердого палива за відомими методиками, згідно з якими $\rho_{орг}$ залежить від умісту в горючій масі палива вуглецю $C^Г$ і водню $H^Г$.

Оцінюючи роль трьох показників у формулі (5.24) – вологості W , зольності A та об'ємної густини $\rho_{об}$, можна констатувати, що всі вони впливають на процес зброджування. Тому концентрацію органічної речовини S можна розглядати як комплексний критерій,

що характеризує властивості осаду як субстрату під час анаеробного зброджування. Експериментальні дослідження показують, що величина S впливає на тривалість зброджування, потрібну для досягнення технічної межі зброджування, яка зі збільшенням S зростає. При перевищенні певної (критичної) концентрації органічної речовини S_{kr} (для ряду органічних відходів $S_{kr} = 60\text{--}100 \text{ кг/м}^3$) процес зброджування гальмується, при цьому значення кінетичного параметра K у виразі (5.22) різко зростає. Вважають, що збільшення K свідчить про інгібування процесу, спричинене перевантаженням системи, наявністю інгібованих речовин, що перевищують допустимі рівні, погіршенням контакту між бактеріями та органічним субстратом унаслідок високої концентрації останнього й іншими причинами.

Технологічний параметр – симплекс b/τ (або $\overline{b/\tau}$) – раніше у вітчизняній практиці розрахунків процесу анаеробного зброджування не використовувався. Замість нього застосовувався параметр b – вихід газу на одиницю об'єму метантенка або, що практично те саме, на одиницю об'єму зброджуваного осаду. Цей параметр використовувався для грубо орієнтовного оцінювання загального виходу біогазу на очисних спорудах. Проте збільшення швидкості виходу біогазу b/τ дає експлуатаційним службам можливість збільшити загальний вихід біогазу без зміни технології зброджування. Інший шлях регулювання виходу біогазу, що полягає в зміні об'єму метантенків, нині навряд чи здійснений, оскільки більшість конструкцій метантенків мають незмінну геометрію та об'єм, а тримати резервні метантенки економічно недоцільно.

Збільшення навантаження d дозволяє за інших рівних умов пропустити через наявний апарат пропорційно більшу кількість осаду. Під час проектування нових споруд це означає скорочення витрат на будівництво метантенків меншого об'єму. При цьому зменшуються і тепловтрати через конструкції метантенків, що захищають. На практиці реальні можливості збільшення навантаження на метантенк для осаду заданої концентрації виявляються вичерпаними вже під час проектування, оскільки на цій стадії зазвичай передбачаються гранично можливі за умов надійності процесу дози завантаження і відповідно мінімальна тривалість зброджування та максимальне навантаження на метантенк. Таким чином, для традиційного процесу зброджування можливе лише збільшення навантаження за рахунок підвищення концентрації осаду. Застосування концентрованих опадів дозволяє не лише зменшити об'єм метантенків, а й відповідно до зменшення об'єму опадів додатково скоротити витрати теплоти на їх підігрівання для підтримання заданої температури зброджування. Із рівнянь (5.22) випливає, що за певного навантаження

$$d = S/\tau \quad (5.26)$$

швидкість виходу метану b/τ залежить від гранично можливого виходу метану \bar{B} , часу перебування зброджуваної біомаси в метантенку та кінетичних параметрів μ_m і K .

У дослідах із відходами тваринництва встановлено, що \bar{B} залежить від породи тварин, які виділяють гній, раціону їх

харчування, терміну і способу зберігання гною, кількості чужорідних матеріалів та інших чинників, що визначають хімічний склад гною. Температура зброджування на граничний вихід метану не впливає. Оскільки відповідно до визначення завжди справедливі такі вирази для розрахунку питомого виходу метану (біогазу) на одиницю маси органічної речовини початкового субстрату:

$$\overline{B_{num}} = \frac{\overline{b}}{\tau} : \frac{S}{\tau}, \quad (5.27)$$

або

$$\overline{B_{num}} = \frac{\overline{b}}{\tau} : d, \quad (5.28)$$

то можна записати

$$\overline{B_{num}} = \overline{B} \left(1 - \frac{K}{\mu_m - 1 + K} \right). \quad (5.29)$$

Зі збільшенням тривалості й температури зброджування збільшується питомий вихід біогазу і відповідно розпад органічної речовини.

Величина $\overline{b/\tau}$ має чітко виражений екстремум. Значення $\overline{b/\tau}$ та d у точці згину позначимо індексом (m). Розрахунки показують, що

$$\overline{b/\tau}_{(m)} = \overline{B} \frac{\mu_m S}{(1 + \sqrt{K})^2}, \quad (5.30)$$

$$d_{(m)} = \mu_m S / (1 + \sqrt{K}), \quad (5.31)$$

$$\overline{B}_{num(m)} = \overline{B} / (1 + \sqrt{K}). \quad (5.32)$$

Найбільша швидкість виходу метану досягається за $S = S_{кр}$, оскільки в цьому разі $K = 1$. Тоді формули (5.30)–(5.32) будуть мати такий вигляд:

$$\overline{b/\tau}_{(m)} = \overline{B} (\mu_m S_{кр} / 4), \quad (5.33)$$

$$d_{(m)} = \mu_m S_{кр} / 2, \quad (5.34)$$

$$\overline{B}_{num(m)} = \overline{B} / 2. \quad (5.35)$$

На жаль, під час зброджування рідких опадів міських стічних вод за традиційною технологією граничні навантаження $d_{(m)}$ зазвичай не можна застосовувати через порушення нормального проходження процесу, що виражається в збільшенні утворення летких жирних кислот, зменшенні частки метану та зростанні частки оксиду вуглецю в біогазі. За мезофільного режиму зброджування навантаження на метантенк зазвичай становлять, кг/(м³ · добу): у Франції – 0,8–1,2; в Англії – 1,0–2,0; у ФРГ – 2,5–4,0; у США – 2,5–5,0.

Розрахунок розпаду сухої беззольної рідини осаду, що завантажується в метатенк, проводять за формулою

$$R_r = R_{\text{lim}} - K_r D_{mt} . \quad (5.36)$$

Зважаючи на кореляцію між розпадом сухої беззольної речовини R_r і питомим виходом біогазу B_{num} за сталої густини біогазу $\rho_r (R_r = B_{num} \rho_r \cdot 100 \%)$ і вважаючи сталою частку метану у біогазі, можна показати, що величина B_{num} під час розрахунків за зазначеним СНіП і за кінетичною моделлю Конто для випадку, якщо $S \leq S_{кр}$ визначається за єдиним випадком:

$$B_{num} = B - K_r \tau^{-1} , \quad (5.37)$$

де B – граничний вихід біогазу на одиницю маси, завантаженої в метантенк органічної речовини за нескінченної тривалості зброджування, $\text{м}^3/\text{кг}$; τ – тривалість зброджування, доба; K_r – коефіцієнт пропорційності, $\text{м}^3 \cdot \text{доба}/\text{кг}$, що визначається за функцією

$$K_r = BKS / [\mu_m S - d(l - K)] . \quad (5.38)$$

Для опадів міських стічних вод вологістю 93–97 %, як показують експериментальні дані досліджень АКГ, межу розпаду можна взяти постійною. Згідно із СНіП2.04.03-85 у цьому діапазоні вологості за відсутності даних про хімічний склад опадів граничний вихід біогазу B , $\text{м}^3/\text{кг}$ сухої беззольної речовини, можна брати таким, що дорівнює 0,53 для осаду первинних відстійників і 0,44 – для

надмірно активного мулу. В цьому разі коефіцієнт пропорційності можна розрахувати за емпіричною формулою

$$K_r = \frac{(38S - 205) P}{100(t - 17,8)}, \quad (5.39)$$

де t – температура зброджування, °С; P – поправковий коефіцієнт.

Формулу (5.39) можна використовувати для розрахунку значень критичної концентрації опадів $S_{кр}$:

$$S = [100 K_r(t - 17,8) + 205] / (38 P). \quad (5.40)$$

Ураховуючи, що за $K = 1$ вираз (5.38) набере вигляду $K_r = B / \mu_m$, одержимо

$$S_{кр} = [100B \mu_m - 1(t - 17,8) + 205] / (38 P). \quad (5.41)$$

Наявність токсичних речовин і зменшення кількості легко-розчинних органічних речовин приводить до додаткового збільшення коефіцієнта K_r , який визначають за експериментальними даними.

Значення критичної концентрації опадів $S_{кр}$, розраховані для мезофільного і термофільного режимів анаеробного зброджування, наведені в таблиці 5.5.

Розрахунки за методикою СНіП і за кінетичною моделлю Конто при $S \leq S_{кр}$ одержують однакові результати, якщо визначати

коефіцієнт K_r за формулою (5.41) або емпіричною формулою (5.42) чи, навпаки, розраховувати значення кінетичного параметра K за виразом, що випливає з формули (5.39):

$$K = K_r (\mu_m S - d) / (BS - K_r d) . \quad (5.42)$$

Таблиця 5.5 – Значення критичної концентрації сухої беззольної (органічної) речовини $S_{кр}$

Тип осаду	Межа зброджування, %	Значення $S_{кр}$, кг/м ³ , за режиму зброджування	
		мезофільний (33 °C)	термофільний (53 °C)
Осад із первинних відстійників (СО)	53	76	93
Надлишковий активний мул (АМ)	44	64	78

Зазначимо, що на відміну від даних Конто, одержаних в основному під час зброджування гною, де при $S \leq S_{кр}$ значення $K = 1$, під час зброджування рідких опадів міських стічних вод $K < 1$. Наприклад, під час мезофільного зброджування сирого осаду з первинних відстійників вологістю 93–95 % значення K , розраховані на основі експериментальних даних, становлять відповідно 0,5–0,3.

Розмір реактора вимірюється в кубічних метрах і залежить від кількості, якості й типу сировини, а також від вибраної температури і часу зброджування. Є декілька способів визначення необхідного об'єму реактора.

Співвідношення добової дози завантаження сировини й розміру реактора. Добова доза завантаження сировини визначається

виходячи із часу зброджування (часу оборту реактора) і вибраного температурного режиму. Для мезофільного режиму зброджування час оборту реактора становить від 10 до 20 діб, а добова доза завантаження – від 1/20 до 1/10 від загального об'єму сировини в реакторі (табл. 5.6). Первинне завантаження реактора субстратом проводять на 2/3 об'єму.

Таблиця 5.6 – Доза навантаження реактора за рідиннофазової ферментації

Вологість	Доза навантаження за різних температурних режимів, %	
	мезофільний	термофільний
93	7	14
94	8	16
95	9	18
96	10	20
97	11	22

Безперервне завантаження і вивантаження

Метантенки можуть працювати в періодичному, безперервному і напівбезперервному режимах. Перехід на безперервний режим зброджування за збереження значення розпаду приводить до деякого збільшення об'єму реактора.

Розмір реактора для перероблення певної кількості сировини

Спочатку, виходячи із кількості тварин, дослідним шляхом визначають добову норму гною (ДН) для перероблення у біогазовій установці. Потім сировину розбавляють водою для досягнення 86–92 % вологості. У більшості сільських установок співвідношення гною і води, що змішуються для одержання сировини, коливається від 1:3 до 2:1. Таким чином, кількість завантажуваної сировини (Д) –

це сума відходів господарства (ДН) і води (ДВ), якою вони розбавляються. Для перероблення сировини за мезофільного режиму рекомендують використовувати дозу добового завантаження Д, що дорівнює 10 т від об'єму загальної завантаженої в установку сировини (ОС). Загальний об'єм сировини в установці не повинен перевищувати 2/3 об'єму реактора. Таким чином, об'єм реактора (ОР) розраховують за такою формулою:

$$ОС = 2/3 \cdot ОР, \text{ а } ОР = 1,5 \cdot ОС, \quad (5.43)$$

де

$$ОС = 10 \cdot Д, \quad (5.44)$$

$$Д = ДН + ДВ. \quad (5.45)$$

Якщо присадибне господарство містить 10 голів ВРХ, 20 свиней і 35 курей, то об'єм добових екскрементів від 1 ВРХ = 55 кг, від однієї свині = 4,5 кг, від 1 курки = 0,17 кг. Об'єм добових відходів господарства ДН буде приблизно дорівнювати 646 кг. Вологість екскрементів ВРХ і свиней становитиме 86 %, а курячого посліду – 75 %. Для досягнення 85 % вологості необхідно додати до пташиного посліду 3,9 літра води (приблизно 4 кг). Отже, добова доза завантаження сировини становитиме приблизно 650 кг. Повне завантаження реактора $ОС = 10 \cdot 0,65 = 6,5$ тонни, і об'єм реактора $ОР = 1,5 \cdot 6,5 = 9,75$, або приблизно 10 м^3 .

Для розрахунку концентрації сухої беззольної речовини осаду S необхідно визначити об'ємну густину осаду $\rho_{об}$ за заданою його вологістю W . Значення $\rho_{об}$ можна розрахувати за формулою

$$\rho_{об} = \frac{\rho_{ісм}}{100 + W \left(\rho_{ісм} \cdot 10^{-3} - 1 \right)} \cdot 100, \quad (5.46)$$

де $\rho_{ісм}$ – істинна густина осаду (густина твердої фази), $кг/м^3$; густину дисперсійного середовища (вода) опадів беремо за $1\,000\, кг/м^3$.

Питомий вихід біогазу може бути розрахований за формулою (5.37) або формулою, що впливає з неї:

$$B_{num} = B - K_z (d/S), \quad (5.47)$$

а при $S > S_{кр}$ – за видозміненою формулою (5.29) з урахуванням допущення сталості частки метану в біогазі:

$$B_{num} = B - \left(1 - \frac{K}{\mu_m - 1 + K} \right) \quad (5.48)$$

або

$$B_{num} = B \frac{\mu_m^{S-d}}{\mu_m^{S+d(K-1)}}, \quad (5.49)$$

де B – граничний вихід біогазу на одиницю маси сухої беззольної речовини в завантажуваному в метантенк осаді, $м^3/кг$.

Розпад органічної речовини R_z , %, розраховують за формулою

$$R_z = B_{num} \rho_z \cdot 100, \quad (5.50)$$

де ρ_z – густина біогазу, кг/м³.

Швидкість виходу біогазу, м³/(м³·добу), визначається за виразом

$$b/\tau = B_{num} d. \quad (5.51)$$

Необхідний робочий об'єм метантенка V , м³, для заданої кількості зброджуваного осаду Q_{oc} , м³/добу, можна визначити за формулою

$$V = Q\tau. \quad (5.52)$$

Загальний вихід біогазу, м³/добу, розраховують за формулою

$$B_{заг} = (b/\tau)V. \quad (5.53)$$

Подальший розрахунок метантенків зводиться до визначення одиничного об'єму й форми метантенків, їх теплотехнічного розрахунку, визначення технологічної схеми (утилізації біогазу), розрахунку біогазового і тепловикористовуваного устаткування, а також до розрахунку насосів, мішалок та іншого допоміжного устаткування.

5.3.4. Тепловий розрахунок метантенка

Проаналізуємо енергетичну ефективність циліндричного метантенка.

За початкові дані при складанні теплових балансів вибрані такі групи параметрів, що характеризують вхідні й вихідні потоки :

- радіус метантенка $r = 3,5$ м;
- висота метантенка $h = 6,5$ м;
- маса органічного субстрату, що підігрівається $G = 20\ 000$ кг;
- маса субстрату в метантенку $G_p = 200\ 000$ кг;
- тривалість процесу метанового зброджування $T_{np} = 10$ днів;
- температура процесу метанового зброджування $t_{np} = 37$ °С ;
- об'ємна витрата субстрату при безперервному поданні $g_c^H = 0,00\ 0231$ м³/с;
- масова витрата органічного субстрату $G_{орг. суб} = 0,231$ кг/с;
- об'ємна витрата води при безперервному поданні $g_B^H = 0,00\ 025$ м³/с;
- температура довкілля $t_\theta = -30$ °С;
- питома теплоємність води $c_\theta = 4\ 189,3$ Дж/кг · К (за $t_\theta = 70$ °С);
- теплопровідність субстрату $\lambda_c = 0,62$ Вт/(м · К);
- динамічна в'язкість субстрату $\mu_c = 0,37$ Па · с (за $t_c = 37$ °С);
- вміст сухої речовини в субстраті $\omega'_{сх.р} = 0,06$;
- вміст у сухій речовині органічної речовини $\omega_{орг.р} = 0,8$;
- вміст беззольної речовини в органічній речовині $\omega_{беззол.р} = 0,99$;

– ентальпія мережевої води $i_g = 293,4$ кДж/кг (за $t_g = 70$ °С);

– витрата мережевої води під час стаціонарного підігрівання метантенка $G_g = 0,8$ кг/с;

– витрата мережевої води під час стаціонарного підігрівання метантенка $\beta = 0,0076$ 1/°С;

– нижча теплота згоряння біогазу $Q_H^6 = 24\,000$ Дж/кг · К.

Визначимо площу поверхні метантенка з плоским покриттям і днищем: $S_p = 2 \cdot \pi \cdot r \cdot h + 2 \cdot \pi \cdot r^2 = 2 \cdot 3,14 \cdot 3,5 \cdot 6,5 + 2 \cdot 3,14 \cdot 3,5^2 = 220$ м².

Задамо коефіцієнт теплопередачі від субстрату в повітря $k_p = 3,43$ Вт/(м² · К) і теплоємність субстрату $c_p = 4\,102,5$ Дж/кг · К.

Показник (темп) охолодження органічного субстрату

$$m = \frac{S_p \cdot k_p \cdot \tau_p}{G_p \cdot c_p} = \frac{220 \cdot 3,43 \cdot 864000}{200000 \cdot 4102,5} = 0,79.$$

Розрахуємо ймовірну температуру субстрату в реакторі метанового бродіння за формулою

$$t_x = t_0 + (t_c'' - t_0) / \exp(m) = -30 + (37 - (-30)) / \exp(0,79) = 16,73^\circ \text{С}.$$

Середня температура субстрату в реакторі за період підігрівання τ :

$$\bar{t}_{\text{сеп}} = \frac{t_c'' - t_x \cdot \exp(-m)}{1 - \exp(-m)} - \frac{t_c'' - t_x}{m} = \frac{37 - 16,73 \cdot \exp(-0,79)}{1 - \exp(-0,79)} - \frac{37 - 16,73}{0,79} = 28,19^\circ \text{С}.$$

Знаходимо кількість теплоти, необхідну для розігрівання субстрату в метантенку від t_x до t_c'' :

$$q_{\text{ндо}} = G_p \cdot c_p \cdot (t_c'' - t_x) = 200000 \cdot 4102,5 \cdot (37 - 16,73) \cdot 10^{-3} = 16633827,913 \text{ кДж}.$$

Обчислимо втрату теплоти в довкілля. Для цього задаємо середнє за період підігрівання значення температури стінки метантенка $\bar{t}_{cm} = -6 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Знаходимо теплофізичні характеристики субстрату за $\bar{t}_{c.p}$:

– густина субстрату

$$\rho_c = 1015,12 - 0,046 \cdot t_c = 1015,12 - 0,046 \cdot 28,19 = 1013,82 \text{ кг/м}^3;$$

– теплоємність субстрату

$$c_{p,c} = 4106,16 - 0,00269067 \cdot t_c^2 = 4106,16 - 0,00269067 \cdot 28,19^2 = 4104,02 \text{ Дж/(кг} \cdot \text{К)};$$

– кінематична в'язкість субстрату

$$\nu_c = \frac{\mu_c}{\rho_c} = \frac{0,37}{1013,82} = 0,00036 \text{ м}^2/\text{с}.$$

Визначимо теплофізичні характеристики субстрату за \bar{t}_{cm} :

– густина субстрату

$$\rho_c = 1015,12 - 0,046 \cdot t_c = 1015,12 - 0,046 \cdot (-6) = 1015,40 \text{ кг/м}^3;$$

– теплоємність субстрату

$$c_{p,c} = 4106,16 - 0,00269067 \cdot t_c^2 = 4106,16 - 0,00269067 \cdot (-6)^2 = 4106,06 \text{ Дж/(кг} \cdot \text{К)};$$

– кінематична в'язкість субстрату

$$\nu_b = \frac{\mu_b}{\rho_b} = \frac{0,37}{1015,40} = 0,00036 \text{ м}^2/\text{с}.$$

Знаходимо коефіцієнт тепловіддачі від субстрату в метантенку до стінки за $\bar{t}_{c.p}$ і \bar{t}_{ct} так:

$$\begin{aligned} \alpha_{1cm} &= 0,5 \cdot \frac{\lambda_c}{d} \cdot (\text{Gr}_c \cdot \text{Pr}_c)^{0,33} \cdot \left(\frac{\text{Pr}_c}{\text{Pr}_{c,ct}} \right)^{0,25} = \\ &= 0,5 \cdot \frac{0,62}{7} \cdot (6557901929 \cdot 2449)^{0,33} \cdot \left(\frac{2449}{2450} \right)^{0,25} = 1009,53 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)}, \end{aligned}$$

$$\text{де } \text{Pr}_c = \frac{\nu_c \cdot c_p \cdot \rho_c}{\lambda_c} = \frac{0,00036 \cdot 4104,02 \cdot 1013,82}{0,62} = 2449;$$

$$\text{Gr}_c = \frac{d^3 \cdot g \cdot \beta \cdot \Delta t}{\nu_c^2} = \frac{7^3 \cdot 9,8 \cdot 0,0076 \cdot 34,19}{0,00036^2} = 6557901929;$$

$$\Delta t = \bar{t}_{c.p} - \bar{t}_{ct} = 28,19 - (-6) = 34,19^\circ \text{C};$$

$$\text{Pr}_{c.ct} = \frac{\nu_c \cdot c_p \cdot \rho_c}{\lambda_c} = \frac{0,00036 \cdot 4106,06 \cdot 1015,4}{0,62} = 2450.$$

Для того щоб розрахувати коефіцієнт тепловіддачі α_{2cm} від стінки резервуара в оточуюче повітря конвекцією за швидкості вітру $w = 4,52 \text{ м/с}$ знаходимо число $\text{Re}_{нов}$ так:

$$\text{Re}_{нов} = \frac{w \cdot d}{\nu_{нов}} = \frac{4,52 \cdot 7}{10,80 \cdot 10^{-6}} = 2929629,63.$$

Оскільки $\text{Re}_{нов} > 5 \cdot 10^4$, то розрахункові коефіцієнти дорівнюють $C = 0,023$ і $n = 0,8$, а визначуваний коефіцієнт тепловіддачі розраховують за формулою

$$\alpha_{2cm} = 0,023 \cdot \frac{\lambda_{нов}}{d} \cdot \text{Re}_{нов}^{0,8} = 0,023 \cdot \frac{0,022}{7} \cdot (2929629,63)^{0,8} = 10,78 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К}).$$

Для розрахунку коефіцієнт тепловіддачі від стінки метантенка в оточуюче повітря за допомогою радіації можна взяти таким:

$$\alpha_{3cm} = 5,8 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К}).$$

Знаходимо коефіцієнт теплопередачі від субстрату через стінки метантенка в повітря:

$$k_p = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_{1cm}} + \frac{1}{\alpha_{2cm} + \alpha_{3cm}}} = \frac{1}{\frac{1}{1009,53} + \frac{1}{10,78 + 5,8}} = 16,31 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К}).$$

Визначаємо теплові втрати в довкілля:

$$Q_{emp} = S_p \cdot k_p \cdot (\bar{t}_{c.p} - t_d) = 220 \cdot 16,31 \cdot (28,19 - (-30)) \cdot 10^{-3} = 208,60 \text{ кВт.}$$

Для стаціонарного підігрівача час, необхідний для підігрівання субстрату в метантенку від ймовірної температури субстрату t_x до температури t''_c :

$$\tau = \frac{q_{nid}}{i_g \cdot G_g - Q_{emp}} = \frac{16633827,913}{293,4 \cdot 0,8 - 208,6} = 636868 \text{ с.}$$

Визначимо середню кількість теплоти Q_{nid2} , передавану субстрату в процесі метанового бродіння в метантенку із системою механічного перемішування:

$$Q_{nid2} = \frac{q_{nid}}{\tau} + Q_{emp} = \frac{16633827,913}{636868} + 208,6 = 234,72 \text{ кВт.}$$

Тепловий ККД метантенка:

$$\eta_p = \frac{Q_{nid2} - Q_{emp}}{Q_{nid2}} = \frac{234,72 - 208,6}{234,72} = 0,11.$$

5.3.5. Термодинамічний розрахунок метантенка

Необхідно здійснити вибір параметрів довкілля і визначення допоміжних розрахункових величин.

1. Задаємо температуру і тиск довкілля для зимового періоду роботи біогазової установки в Україні, беручи її $T_0 = 243 \text{ К}$, $P_0 = 98642 \text{ Па}$.

2. Перемішувальний пристрій є мішалкою з плоскими лопатями із сталі, встановленими перпендикулярно до напрямку їх руху. Мішалка складається з трьох пар лопатей, розміщених під гострим кутом одна відносно одної. Лопаті укріплені на валу накладками на болтах і на шпонках.

Параметри механічного перемішувального пристрою :

- кількість пар лопаток мішалки $z = 3$;
- механічний ККД передатного механізму $h = 0,90$;
- діаметр кола, що окреслюється лопаттю мішалки, $D = 5,6$ м;
- коефіцієнт, що залежить від форми лопаті мішалки, $\varphi = 1,15$;
- частота обертання мішалки $n = 40$ об/хв;
- довжина (виліт) лопаті $b = 2,8$ м;
- висота лопаті $h = 1,4$ м;
- кут нахилу лопаті до напрямку руху $\omega = 90^0$.

3. Допоміжні розрахункові величини: нижча теплота згоряння ефлюента $Q_{32}^H = 9\,050$ Дж/кг · К; теплоємність субстрату на вході в метантенк $c'_p = 4\,102,48$ Дж/(кг · К); температура субстрату на вході в метантенк $T'_{P_{\text{суб}}} = 310$ К; час роботи стаціонарного підігрівача $\tau_{\text{стац}} = 636\,868$ с; температура води в стаціонарному підігрівачі на вході $T'_{P_{\text{вод}}} = 343$ К і на виході $T''_{P_{\text{вод}}} = 323$ К; витрата ефлюента $G_{\text{еф}} = 0,223$ кг/с; вміст сухої речовини в ефлюенті $\omega''_{\text{сух.р}} = 0,0035$; нижча теплота згоряння $Q_{32.\text{еф}}^H = 8536$ Дж/кг · К; теплова ексергія, що відводиться від теплообмінника із субстратом, $E_{\text{вих}}^{TO} = 178,39$ кВт.

Ефективність процесу метанового бродіння за мезофільного режиму

$$\eta_{\text{еф}} = \frac{100 - (-200 \cdot (-1,5/T_{\text{np}}))}{100} = \frac{100 - (-200 \cdot (-1,5/10))}{100} = 0,7.$$

Вихід біогазу розраховують за формулою

$$G_{\text{бз}} = G_{\text{орг.суб}} \cdot \omega_{\text{сух.р}} \cdot \omega_{\text{орг.р}} \cdot \omega_{\text{беззол.р}} \cdot \eta_{\text{еф}} = 0,231 \cdot 0,06 \cdot 0,8 \cdot 0,99 \cdot 0,7 = 0,0077 \text{ кг/с.}$$

Визначення суми ексергії, що підводиться до метантенка

1. Визначаємо ексергію, що підводиться до реактора метанового бродіння:

$$E'_{\text{Рсуб}}^{\text{хім}} = G_{\text{орг.суб}} \cdot Q_{\text{зг}}^{\text{н}} \cdot \omega'_{\text{сух.р}} = 0,231 \cdot 9050 \cdot 0,06 = 125,43 \text{ кВт.}$$

$$E'_{\text{Рсуб}}^{\text{тепл}} = \frac{G \cdot c'_p \cdot \left(T'_{\text{Рсуб}} - T_0 - T_0 \cdot \ln \frac{T'_{\text{Рсуб}}}{T_0} \right)}{1000 \cdot \tau_{\text{стац}}} =$$

$$= \frac{200000 \cdot 4102,48 \cdot \left(310 - 243 - 243 \cdot \ln \frac{310}{243} \right)}{1000 \cdot 636868} = 10,08 \text{ кВт.}$$

2. Визначаємо ексергію, що підводиться з мережевою водою:

$$E'_{\text{Рвод}}^{\text{тепл}} = G_{\text{в}} \cdot c_{\text{р.в}} \cdot \left(T'_{\text{Рвод}} - T_0 - T_0 \cdot \ln \frac{T'_{\text{Рвод}}}{T_0} \right) \cdot 10^{-3} =$$

$$= 0,8 \cdot 4189,3 \cdot \left(343 - 243 - 243 \cdot \ln \frac{343}{243} \right) \cdot 10^{-3} = 54,45 \text{ кВт.}$$

3. Потужність, що підводиться до метантенка, визначається виходячи з потужності механічного перемішувального пристрою:

$$L_p = 60 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{\varphi \cdot z}{\eta} \cdot S \cdot D^3 \cdot n^3 \cdot \rho = 60 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{1,15 \cdot 3}{0,9} \cdot 3,92 \cdot 5,6^3 \cdot 40^3 \cdot 1000 =$$

$$= 101337 \text{ Вт} = 101 \text{ кВт,}$$

де площа лобової поверхні лопатки, що витісняє рідини:

$$S = b \cdot h \cdot \sin \omega = 2,8 \cdot 1,4 \cdot \sin 90^\circ = 3,92 \text{ м}^2.$$

4. Визначаємо суму ексергій на вході в метантенк:

$$E_{\text{вх}}^P = E_{\text{Рсуб}}^{\text{хім}} + L_P + E_{\text{Рвод}}^{\text{тепл}} + E_{\text{Рсуб}}^{\text{тепл}} + E_{\text{вих}}^{\text{ТО}} = 538,6 \text{ кВт.}$$

Визначення суми ексергій на виході з метантенка

1. Визначаємо ексергію ефлюента:

$$E_{\text{Рсуб}}^{\text{хім}} = G_{\text{эф}} \cdot Q_{\text{з.эф}}^{\text{н}} \cdot \omega_{\text{сх.р}}^{\text{н}} = 0,223 \cdot 8536 \cdot 0,0035 = 66,71 \text{ кВт.}$$

2. Визначаємо кількість ексергії, що відводиться від метантенка з гарячою мережевою водою за одиницю часу:

$$\begin{aligned} E_{\text{Рвод}}^{\text{тепл}} &= G_{\text{в}} \cdot c_{\text{р.в}} \cdot \left(T_{\text{Рвод}}^{\text{н}} - T_0 - T_0 \cdot \ln \frac{T_{\text{Рвод}}^{\text{н}}}{T_0} \right) \cdot 10^{-3} = \\ &= 0,8 \cdot 4189,3 \cdot \left(323 - 243 - 243 \cdot \ln \frac{323}{243} \right) \cdot 10^{-3} = 36,34 \text{ кВт.} \end{aligned}$$

3. Визначаємо ексергію біогазу:

$$E_{\text{Рбг}}^{\text{хім}} = 0,975 \cdot G_{\text{бг}} \cdot Q_{\text{н}}^{\text{б}} = 0,975 \cdot 0,0077 \cdot 24000 = 179,81 \text{ кВт.}$$

4. Визначаємо суму ексергій на виході з метантенка:

$$E_{\text{вих}}^P = E_{\text{Рбг}}^{\text{хім}} = 179,81 \text{ кВт.}$$

Визначуваний ексергічний ККД

$$\eta_{\text{Р}} = \frac{E_{\text{вих}}^P}{E_{\text{вх}}^P} = \frac{179,81}{538,6} = 0,33.$$

5.4. Біоочищення газоповітряних викидів

Біологічні методи очищення повітря ґрунтуються на здатності мікроорганізмів руйнувати в аеробних умовах широкий спектр

речовин і сполук до кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O . Широко відома здатність мікроорганізмів метаболізувати аліфатичні, ароматичні, гетероциклічні, ациклічні та різні C_1 -сполуки. Мікроорганізми утилізують аміак, окиснюють сірчистий газ, сірководень і диметилсульфоксид. Утворювані сульфати утилізувалися іншими мікробними видами. Є дані про ефективне окиснення аеробними карбоксидобактеріями моноокислу вуглецю, що є одним із найбільш небезпечних повітряних забрудників. Представники роду *Nocardia* ефективно руйнують стерини і ксилол; *Hyphomicrobium* – дихлоретан; *Xanthobacterium* – етан і дихлоретан; *Mycobacterium* – вінілхлорид. Для біологічного очищення повітря застосовують три типи установок: біофільтри, біоскрубери і біореактори з омиваним шаром (табл. 5.7).

У біофільтрах за фільтрувальний носій для шару використовують природні матеріали – компост, торф та ін. Ці матеріали містять у своєму складі різні мінеральні солі та речовини, необхідні для розвитку мікроорганізмів. Тому в біофільтри не вносять яких-небудь мінеральних добавок.

Повітря, що підлягає очищенню, подається вентилятором у систему, проходить через фільтрувальний шар у будь-якому напрямі, знизу – вгору або навпаки. При цьому повітря повинне проходити рівномірно через увесь об'єм фільтрувального шару. Тому необхідні однорідність шару та певний ступінь вологості.

Таблиця 5.7 – Класифікація установок біологічного очищення повітря

Тип установки	Робоче тіло	Водний режим	Основні стадії видалення домішок із повітря	Джерело мінеральних солей
Біофільтр	Фільтрувальний шар – іммобілізовані на природних або синтетичних носіях мікробні клітини	Циркуляція води не спостерігається	1. Десорбція матеріалом фільтрувального шару. 2. Деструкція мікробними клітинами	Матеріал фільтрувального шару
Біоскрубер	Вода, активний мул	Циркуляція води	1. Абсорбція в абсорбері водою. 2. Деструкція в аеротенку з активним мулом	Мінеральні солі вносять у воду
Біореактор з омиваним шаром	Іммобілізовані на штучних носіях мікробні клітини	Циркуляція води	1. Дифузія через водну плівку до мікроорганізмів. 2. Деструкція в біологічному шарі	Мінеральні солі вносять у воду

Оптимальна для очищення повітря вологість фільтрувального шару становить 40–60 т ваги матеріалу носія. За недостатньої вологості матеріалу фільтрувального шару в ньому утворюються тріщини, матеріал пересихає.

Ефективність роботи біофільтра визначається газодинамічними параметрами фільтрувального шару, спектром і концентрацією наявних у повітрі речовин та ферментативною активністю мікроорганізмів-деструкторів. При цьому швидкість видалення шкідливих домішок із повітря в процесі біоочищення може лімітуватися як дифузією речовин із газової фази в біокаталітичний

шар, так і швидкістю проходження біохімічних реакцій у мікробних клітинах.

За високої вхідної концентрації шкідливих речовин у повітрі процес їх деструкції у процесі проходження потоку через фільтрувальний шар нерівномірний. Спочатку руйнуються легкодоступні речовини, і лише у кінці процесу починається руйнування важкодегратованих сполук. Так, за наявності в повітрі як шкідливих домішок комплексу сполук (бутанолу, етилацетату, бутилацетату й толуолу) останній утилізувався мікроорганізмами лише після окиснення всіх інших речовин.

Принцип функціонування біоскруберів відрізняється тим, що процес очищення повітря реалізується двома стадіями у двох різних установках. На першому етапі в абсорбері токсичні речовини, що містяться в повітрі, а також кисень розчиняються у воді. В результаті повітря виходить очищеним, а забруднена вода далі проходить на очищення. Застосовують різні типи абсорберів (барботажні, насадні, розпорозувальні, форсунки і т. д.). Мета конструкційних удосконалень полягає у збільшенні площі поверхні поділу фаз, газової рідини. Це визначає ефективність абсорбції. На другій стадії забруднена вода надходить в аеротенк, де вона регенерується. Очищення води в аеротенку відбувається за звичайною схемою за участі кисню. У процесі очищення складні органічні речовини окиснюються мікроорганізмами, що формують активний мул, до кінцевих продуктів з утворенням біомаси.

Біоскрубери порівняно з біофільтрами займають меншу площу, оскільки є баштами заввишки декілька метрів. Експлуатаційні

витрати під час використання біоскрubberів вищі, оскільки процес біоочищення води вимагає істотних витрат. Застосування біоскрubberів ефективно за наявності в повітрі добре розчинних токсичних речовин.

Біологічні методи очищення газоповітряних викидів почали застосовувати порівняно недавно і поки що в обмежених масштабах, але перспектива їх використання очевидна.

5.5. Біовилуговування корисних компонентів із мінеральної сировини

Під бактеріальним вилуговуванням розуміють процес виборчого вилучення хімічних елементів з багатокomпонентних сполук у процесі їх розчинення у водному середовищі мікроорганізмами. Метод бактеріального вилуговування може бути застосований при будь-якому способі вилуговування, якщо в ньому не використовують підвищення температури і тиску.

Біовилуговування – це технологія, що дозволяє витягати метали із збіднених руд за допомогою застосування хемолітотрофних мікроорганізмів.

Біовилуговування дозволяє економити матеріали та енергію, воно може замінити такі способи переробки мінеральної сировини, як обпалювання, автоклавне вилуговування, металургійна плавка, які забруднюють довкілля отруйними газами і токсичними хімікатами. Ці бактерії нешкідливі для людей, харчуються мінералами, легко транспортуються, стійкі до низьких температур і відсутності поживного середовища і можуть існувати при температурі до 80⁰С.

У таблиці 5.8 наведений перелік мікроорганізмів важливих для гідрометалургії та можливі сфери їх застосування.

Таблиця 5.8 – Мікроорганізми важливі для гідрометалургії

Мікроорганізми	Процеси	Можлива сфера застосування
1	2	3
Бактерії родів <i>Thiobacillus</i> і <i>Leptospirillum</i> (<i>Thiobacillus ferroxidans</i> , <i>Thiobacillus thioxidans</i> , <i>Thiobacillus acidophilus</i> , <i>Leptospirillum ferroxidans</i>)	Окислення сульфідних мінералів S ⁰ и Fe ²⁺ при рН 1,4–3,5 і t=5–35°C	Підземне та чанове вилуговування металів із сульфідних та змішаних руд та концентратів, з відходів пірометалургійної промисловості
Факультативно-термофільні бактерії близькі до тіобацил	Те ж при рН 1,1–3,5 і t=30–55°C	Те ж
Факультативно-термофільні бактерії роду <i>Sulfobacillus</i>	Те ж при рН 1,1–4,0 і t=28–60°C	Те ж

Продовження таблиці 5.8

1	2	3
Ацидофільні бактерії родів <i>Sulfolobus</i> і <i>Acidianus</i>	Те ж при рН 1,0–5,0 і t=45–96°C	Те ж
Гетеротрофні мікроорганізми та їх метаболіти (бактерії, міцелі альні гриби, дріжджі, водорості)	Деструкція сульфідних, силікатних, алюмосилікатних мінералів, відновлення та окиснення марганцю, розчинення золота, бісорбція металів	Вилучення металів з карбонатних та силікатних руд та гірських порід, збагачення руд; вилуговування золота; використання бактеріальної біомаси та метаболітів у флотації руд (ліпіди); очистка промислових стічних вод від металів; селективне вилучення металів з розчинів

Біохімічне вилуговування здійснюють аеробні бактерії та археї, які здатні окисляти сульфідні мінерали. Лідирують в цих процесах представники пологів *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum*, *Sulfobacillus*, *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera*, *Ferroplasma*.

При прямому бактеріальному вилуговуванні відбувається взаємодія мікробних клітин з поверхнею твердої частинки. Слід зазначити, що в останні десятиліття в області біовилуговування розвивається напрямок використання мікроорганізмів, які ведуть процеси вилуговування при підвищеній температурі, здатні руйнувати силікатні мінерали, забезпечують вилучення металів при помірно кислих значеннях рН.

У ході досліджень у процесі культивування формується стійка асоціація аеробних мікроорганізмів, кількість яких досягає не менше $4,9 \cdot 10^{10}$ КУО/мл.

Таким чином, досліджено, що на субстраті, що містить свіжий фосфогіпс можна досягти високих показників розвитку необхідних еколого-трофічних груп бактерій, що задіяні у процесі біохімічного вилуговування корисних елементів з фосфогіпсу. З точки зору перспективи використання фосфогіпсу як мінерального субстрату в біотехнологічних процесах можна визначити такі його переваги: невисоку вартість; не містить вишкідливих сполук; є джерелом потрібних макро- і мікроелементів для мікроорганізмів; стимулює розвиток потрібних еколого-трофічних груп; створює сприятливі умови для формування стійкої біоплівки.

Біовилуговування дозволяє економити матеріали та енергію, воно може замінити такі способи переробки мінеральної сировини, як обпалювання, автоклавне вилуговування, металургійна плавка, які забруднюють довкілля отруйними газами і токсичними хімікатами. Ці бактерії нешкідливі для людей, харчуються мінералами, легко транспортуються, стійкі до низьких температур і відсутності поживного середовища і можуть існувати при температурі до 80°C .

5.5.1. Метод поверхневого вилуговування куп і відвалів

Цей метод застосовують зазвичай при вилуговуванні міді з порід із низьким її вмістом (менше 0,4% за вагою). Такі відвали накопичуються у великих кількостях при великомасштабній відкритій розробці руди і можуть займати величезні площі та

досягати у висоту кількох сотень метрів. Вилуговування куп дещо відрізняється від вилуговування відвалів. Купи містять підвищений у порівнянні з відвалами вміст металів, витягування яких в принципі можливо за досить короткий строк – кілька місяців. У той же час вилуговування відвалів може тривати роками. У купах і відвалах подрібнена руда покладена на похилу водонепроникну підставку. Поверхні куп і відвалів орошаються рідиною, що представляє собою слабкий розчин кислоти та іонів тривалентного заліза. Збір розчину з вилугуваним металом, що профільтровується через шар породи, збирають знизу. Оскільки при вилуговування відвалів у середовищі, як правило, розвиваються природні мікроорганізми, засіву (інокуляції) не виконують. Кисле середовище і наявність кисню сприяє підвищенню каталітичної активності *Thiobacillus ferrooxidans*. Витравлюють рідину за допомогою насосів, що подають нагору купи руди, яка розпорошується по її поверхні і потім самопливом стікає вниз, фільтрується через цю руду. Збагачені металом розчини, що стікають з відвалів і куп, направляються у спеціальні ставки і водойми для збору та вилучення металу. Вилучення проводять методом простого осадження або електролізом тощо. Відпрацьований розчин, що містять в основному розчинене залізо, регенерують в окислювальних ставках і знову подають у відвали. Типова схема бактеріального вилуговування міді з куп і відвалів представлена на рис. 5.21.

Швидкість вилучення металу при промисловому вилуговуванні куп і відвалів залежить від багатьох факторів: активності культури, якості руди і ступеня її дисперсності, швидкості фільтрації розчину

вилуговування, аерації. Так, при введенні стисненого повітря в товщу мідної руди, що вилуговується, швидкість вилучення міді зростає на 25%.

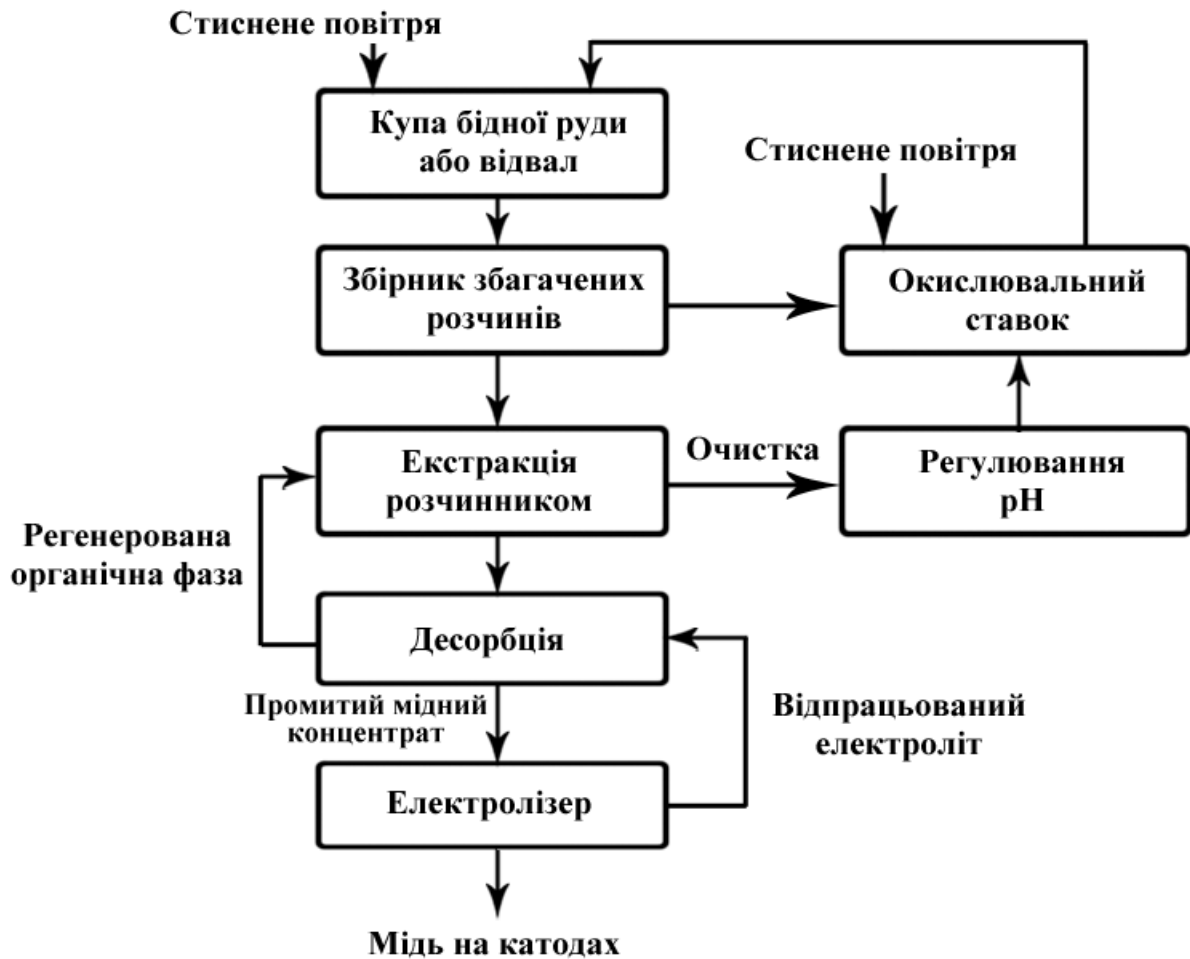


Рисунок 5.21 – Схема бактеріального вилуговування міді з куп або відвалів руди

Застосовуване, наприклад, в штаті Нью-Мексико (США) вилуговування відвалів дає добовий видобуток міді близько 45–50 т; собівартість міді, що одержана таким способом, у 1,5–2,0 рази нижче порівняно зі звичайними методами гідро- і пірометалургії. В цілому в США 15% міді отримують за допомогою процесів бактеріального вилуговування куп і відвалів.

Істотно рідше мікроорганізми застосовують для вилуговування в промислових масштабах урану. Для цього порода або руда повинні бути багаті сульфідними мінералами і не надто інтенсивно поглинати кисень.

На рисунку 5.22 зображена схема кучного вилуговування, яка можлива для застосування вилучення металів із рудного матеріалу.

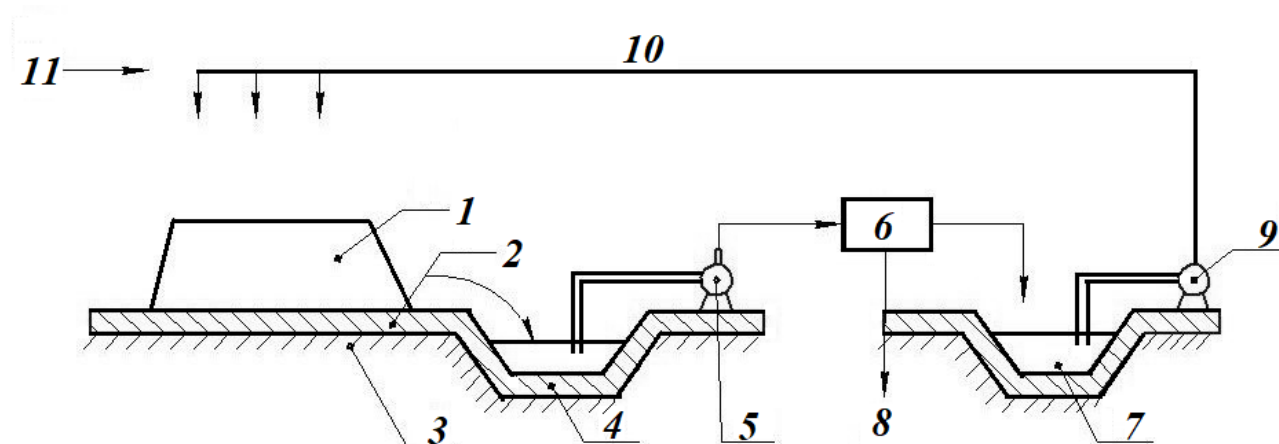


Рисунок 5.22 – Схема процесу кучного вилуговування :

1 – масив пустої породи; 2 – протифільтраційний екран; 3 – поверхня ґрунту; 4 – спеціальний ставок для збору збагаченого металами стоку; 5, 9 – насоси; 6 – блок обробки розчину біовилуговування за відомою технологією; 7 – ставок для відпрацьованого розчину; 8 – відведення продукту (РЗМ, фосфати тощо); 10 – система зрошення водою; 11 – бактеріальна суспензія.

Купа роздробленої на певні фракції розміщується на сітковій підкладці для вільного проходження біосуспензії, що фільтрується через шар фосфогіпсу. Біосуспенсія чи хімічний розчин подається насосом 7 через систему зрошення. Під сіткою на ґрунті 2 розташовуються збірні жолоби по яким продуктивний розчин(біосуспензія з вилученим металом) стікає в збірний ставок 3, звідки

продуктивний розчин насосом 4 перекачують в цементацийні жолоби 5 для відділення металу від пульпи.

На рисунках 5.23 та 5.24 представлені установка кучного бактеріального вилуговування сульфідних руд на підприємстві «Радіо Хілл» та площадка кучного бактеріального вилуговування (Австралія).



Рисунок 5.23 – Установка кучного бактеріального вилуговування на підприємстві «Радіо Хілл» (Австралія)

Руди дроблять до класу крупності 100% мінус 7,5 мм і складають на гідроізоляційну підставу в штабелі висотою 5 метрів, загальною масою 1000 т. В експлуатації знаходиться декілька штабелів. Рудні штабеля зрошують кислими розчинами (рН 1,4-1,9), при цьому відбувається бактеріальне окислення сульфідів, і в розчин переходить залізо і кольорові метали. Розчини знаходяться в обороті, причому перед зрошенням рудного штабеля розчини пропускають через штабель з інертним матеріалом (порожньою породою). У цьому штабелі відбувається бактеріальне окислення розчиненого

двовалентного заліза до тривалентного, тим самим досягається регенерація розчинника.



Рисунок 5.24 – Площадка кучного бактеріального вилуговування (Австралія)

За рахунок окислення сульфідів температура в штабелі досягає 90°C . Оптимальною температурою вважається $40\text{-}50^{\circ}\text{C}$. Регулювання температури ведуть шляхом зміни витрати повітря і розчину на зрошення.

Частина продуктивного розчину забирають для осадження металів. Спочатку виділяють мідь електролізом, потім залізо вапном, і потім нікель і кобальт карбонатом магнію. Процес триває близько року, при цьому кольорові метали витягуються в концентрації на 70-90%.

5.5.2. Розвиток екологічно безпечних технологій біовилуговування фосфорвмісної сировини природнього та антропогенного походження

Селективне відновлення низькоякісних фосфатів може здійснюватися в два етапи. Перший етап заснований на «принципі біовилуговування», який застосовується досить широко для вилучення металів (наприклад, міді, цинку, урану і т. п.) в гірничодобувній промисловості.

Принципова технологічна схема процесу біоокиснення фосфорвмісної сировини зображена на рис. 5.25.

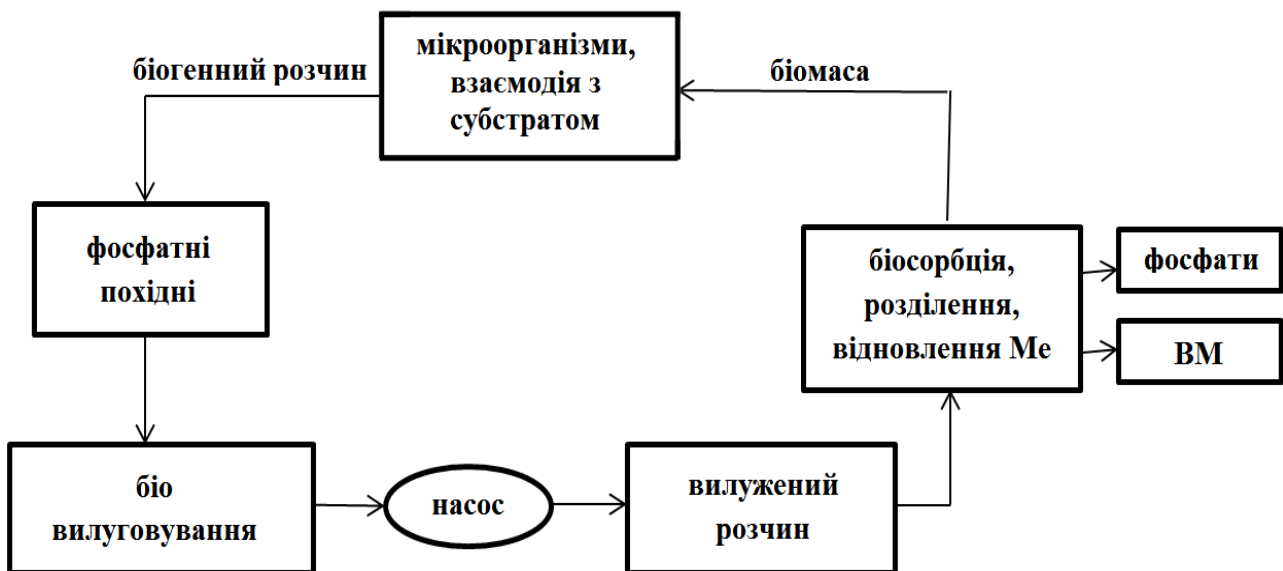


Рисунок 5.25 – Технологічна схема процесу (Пляцук Л.Д., Черниш Є.Ю. та ін., 2018)

За допомогою мікробної генерації сульфатної кислоти фосфатні похідні і важкі метали розчиняються протягом декількох годин. Тверда фаза, що залишається, відділяється від рідкої і може бути утилізована. На другій стадії фосфат селективно відділяють від

важких металів (біосорбція). Надалі біомаса, збагачена фосфатом, відділяється від рідкої фази і може бути повернута в технологічний процес. Таким чином, цей процес має суттєві переваги (рис. 5.26) і дозволяє відновити до 90% вихідного фосфату.

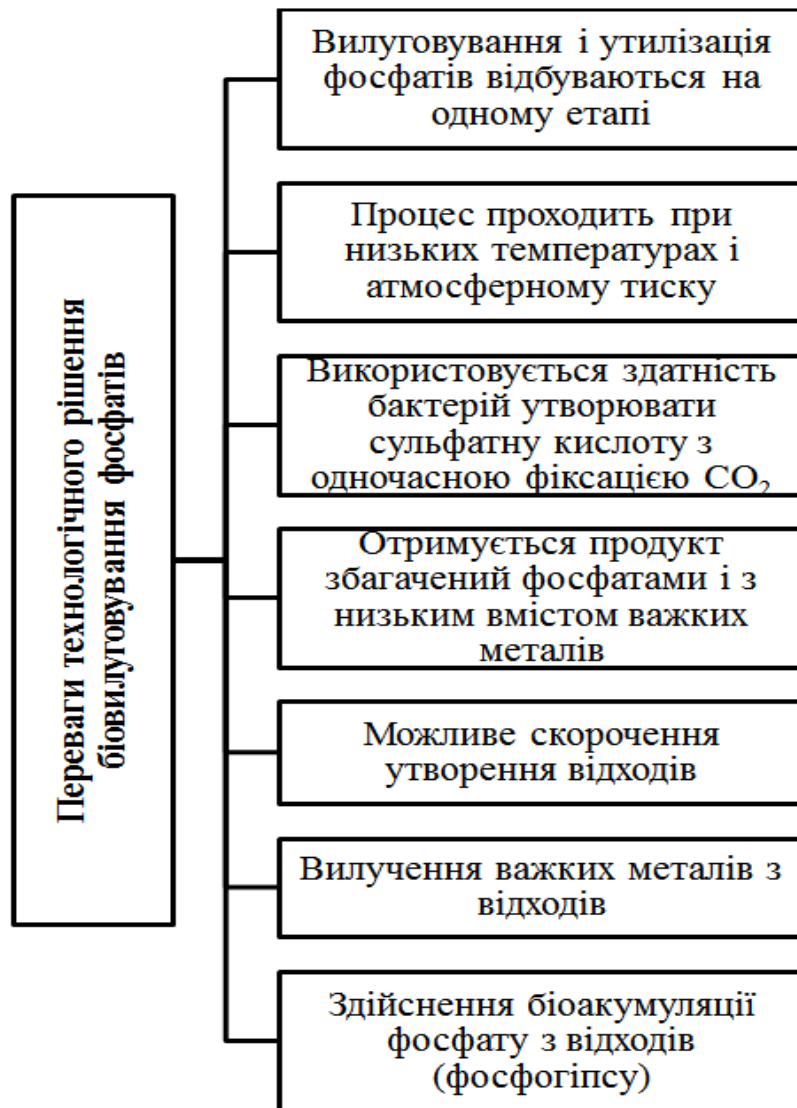


Рисунок 5.26 – Основні еколого-біохімічні аспекти переробки фосфатної сировини в процесі біохімічної конверсії (Пляцук Л.Д., Черниш Є.Ю. та ін., 2018)

Сполуки фосфору, що входять до складу мінералів, недоступні або слабо доступні рослинам. Але багато мікроорганізмів можуть

переводити нерозчинні сполуки фосфорної кислоти в розчинний стан. До них відносяться представники бактерій, актиноміцетів, грибів та інших груп мікроорганізмів (роди *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Penicillium*, *Aspergillus*). Розчинення фосфатів у ґрунті відбувається в результаті утворення вуглекислого газу або різних кислот.

Мобілізація нерозчинних сполук фосфору відбувається також завдяки утворенню мікроорганізмами органічних кислот і кетокислот при неповному окисненні вуглеводів або їх бродінні.

У деяких випадках розчиненню фосфатів сприяють азотна кислота, що утворюється нітрифікуючими бактеріями, і сірчана кислота, яка з'являється в результаті діяльності бактерій, що окиснюють сірку. Все це підвищує доступність фосфору для рослин.

У промисловості для інтенсифікації процесів біологічного окиснення або відновлення корисних елементів з мінеральних руд достатньо ефективно застосовуються методи, наведені на рисунку 5.27.

При цьому використовувалися змішані і чисті ацидофільні бактеріальні культури, що склалися з залізо- і / або сірко окиснюючих бактерій *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* і *Leptospirillum ferrooxidans*. Ці ацидофіли зазвичай використовуються для біовилуговування сульфідних мінералів, їх застосування для солубілізації фосфору досі було обмеженим. Вихід біовилуговування фосфору склав до 97% і 28% для фторапатитної руди низького концентрату і концентрату відповідно в розчинах з вмістом твердої речовини 1%.

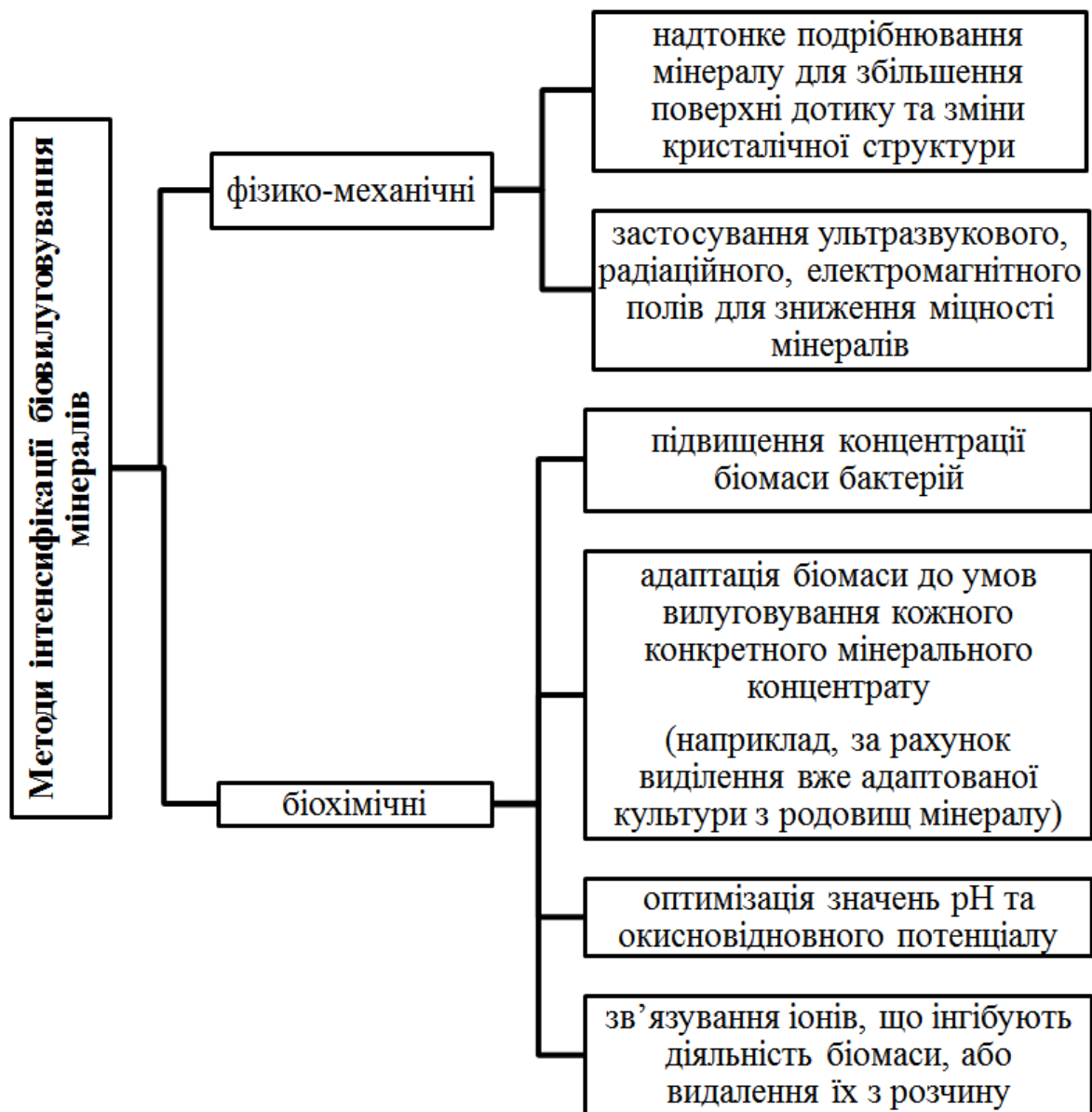


Рисунок 5.27 – Методи інтенсифікації процесів бактеріального окиснення та вилуговування мінералів (Пляцук Л.Д., Черниш Є.Ю. та ін., 2018)

Слід відзначити, що до природних механізмів автокаталізу в просторі біореактора формується власна асоціація мікроорганізмів, що здійснює трансформацію вихідної сировини, і при цьому є висока вірогідність, що домінантним видом у цій асоціації не буде штучно інокульований штам, а природні види, що адаптувалися до змінених

умов поживного середовища. Це явище, на наш погляд, можна обґрунтувати синергетичними закономірностями розвитку мікроекосистеми в просторі біореактора.

Відповідно першочерговим завданням є не виділення високоактивних штамів, а дослідження синергетичних закономірностей домінантності видів мікроорганізмів, що задіяні в процесах біологічної конверсії мінералів та можуть бути присутні в симбіотичних відношеннях у мікробній асоціації, (що може містити як гетеротрофні, так і хемолітотрофні групи мікроорганізмів) в процесі біорозкладання фосфатної сировини разом з органічною речовиною в ацидофільних умовах, що має на меті залучення в промисловий процес екологічно безпечного виробництва фосфорних добрив фосфатну сировину з низьким вмістом фосфору.

РОЗДІЛ 6

ПРОДУКТИВНІСТЬ ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ

6.1. Продукти екологічної біотехнології

Асортимент продуктів, одержуваних в екологічних біотехнологічних процесах, надзвичайно широкий. За різноманітністю та обсягами виробництва перше місце займають продукти, одержувані в процесах, що базуються на життєдіяльності мікроорганізмів. Ці продукти поділяють на три основні групи:

1) *мікробна біомаса*, що є цільовим продуктом (білок одноклітинних) або використовується як біологічний агент у процесах біометаногенезу, бактеріального вилуговування металів, а також мікробіологічні засоби захисту рослин, що часто являють собою висушену культуру мікроорганізмів, патогенних для комах-шкідників сільського господарства; біодобрива; при рециклізації відходів рослин, що з'являються в різного роду виробництвах (таких як солома, вичавки, відходи цитрусових, сироватка молока, меляса, гній тварин та побутові стічні води) для отримання одноклітинного білка;

2) *біохімічні продукти*:

– первинні метаболіти – це низькомолекулярні сполуки, необхідні для росту мікроорганізмів як будівельні блоки макромолекул, коферментів – для використання в їжі та кормах: первинні метаболіти – амінокислоти, вітаміни, кислоти, спирти, розчинники;

– вторинні метаболіти (ідіоліти) – це сполуки, що не є необхідними для росту мікроорганізмів і не пов'язані з їх ростом, такі як: антибіотики, алкалоїди, гормони росту, токсини, які активно використовуються в медицині та ветеринарії;

3) *хімічні продукти*, що утворюються внаслідок перетворень із використанням ферментативної активності мікроорганізмів – газоподібні продукти мікробного метаболізму (біогенні сірководень, метан, аміак) – одержання біопалива, технологічні процеси одержання елементарної сірки, технології осадження іонів важких металів у формі сульфідів і т. п.;

2) *одержання очищених від забруднюючих речовин компонентів середовищ* (освітлені стічні води, знезаражені осади міських стічних вод, депарафінізована нафта і т. п.);

3) *цінні метали*, виділені за допомогою мікробіологічного вилуговування з руд.

Необхідно зазначити, що існують деякі залежності часу проведення основної ферментації від необхідності отримання того чи іншого цільового продукту. Якщо процес спрямований на одержання біомаси, то призначення ферментації – отримати максимально можливий титр клітин, а в разі одержання метаболітів їх накопичення здійснюють одночасно, причому максимумами утворення продуцента і цільового продукту завжди зрушені за часом. Тому тривалість ферментації в першому випадку завжди менша, ніж у другому. Якщо метою є одержання біомаси промислового штаму в періодичному процесі, то час культивування не перевищує 24 год. Під час

виробництва первинних метаболітів час біосинтезу становить 48–72 год, а вторинних – 72–144 год.

6.1.1. Біогаз

Біогаз, одержуваний з органічної сировини у процесі біометаногенезу в результаті розкладання складних органічних субстратів різної природи за участі змішаної з різних видів мікробної асоціації, являє собою суміш із 65–80 % метану і 20–35 % вуглекислоти, а також незначних кількостей сірководню, азоту, водню.

У таблиці 6.1 подані характеристики біогазу як палива.

Таблиця 6.1 – Основні характеристики біогазу при утриманні CH_4 50–80 %

Характеристика	Значення
Густина за нормальних умов, $\text{кг}/\text{м}^3$	0,95–1,40
Нижча теплота згоряння, $\text{МДж}/\text{м}^3$	18,0–27,5
Вища теплота згоряння, $\text{МДж}/\text{м}^3$	20,0–31,5
Температура займання, $^{\circ}\text{C}$	650–750
Межа займистості (вміст у повітрі), %	6–12
Теоретичний об'єм повітря, необхідний для горіння, $\text{м}_\text{в}/\text{м}_\text{б}$	4,8–7,6
Вміст вуглекислого газу в сухих продуктах згоряння, %	14,3–21,0
Нормальна швидкість поширення полум'я, $\text{см}/\text{с}$	16–22
Концентраційні межі запалення, %:	
нижча	6,5–10
вища	17–31

Використання біогазу як палива дозволяє одержати значний екологічний ефект. Продукти енергетичних процесів, пов'язаних із

використанням традиційних видів палива, становлять 80–88 % від усіх видів забруднення біосфери.

Теплотворна здатність біогазу залежить від співвідношення метану та вуглекислоти і становить 5–7 ккал/м³; 1 м³ біогазу еквівалентний 4 кВт/год електроенергії, 0,6 л гасу, 1,5 кг вугілля і 3,5 кг дров. Неочищений біогаз використовують у побуті для обігрівання осель і приготування їжі, а також застосовують як паливо в стаціонарних установках, що виробляють електроенергію. Компримований газ можна транспортувати і використовувати (після попереднього очищення) як паливо для двигунів внутрішнього згорання. Очищений біогаз аналогічний природному газу. У процесах біометаногенезу вирішується не лише проблема відтворення енергії – ці процеси надзвичайно важливі в екологічному плані, оскільки дозволяють вирішувати проблему утилізації та перероблення відходів різних виробництв і технологій, сільськогосподарських та промислових, а також побутових, включаючи стічні води й тверде сміття міських звалищ.

6.1.2. Біогумус

Екологічно чистий продукт, отриманий під час біоконверсії органічних відходів, під дією різних груп мікроорганізмів, як аеробних (компостування, вермикомпостування), так і анаеробних (метаногенез), називається **біогумусом**.

Установлено дію різних доз біогумусу на мікробіологічну активність ґрунтів при вирощуванні ярої пшениці. Біогумус має слабколужну реакцію (рН 7,4–7,8) при вмісті загального азоту від

0,84 до 1,22 %, фосфору – від 0,69 до 0,99 %, калію – від 0,9 до 1,17 % і рухомого амонію – від 232 до 347 мг/% речовини. В 1 г біогумусу, утвореного при вермикомпостуванні, міститься більше ніж 378 млн бактерій амоніфікаторів і 251 тис. бактерій, що розкладають целюлозу та мінералізують органічні речовини. В експериментах, де використовували біогумус, кількість мікроорганізмів у ґрунті була значно вищою, ніж у контролі. Найбільша кількість амоніфікуючих бактерій досягається при внесенні 10 т/га біогумусу, при цьому нітратів у ґрунті виявилось менше, ніж амонію. У міру росту ярої пшениці аж до збирання врожаю в ґрунті зростає кількість нітрифікуючих мікроорганізмів на ділянках із біогумусом. Там само відзначено активізацію біологічної асиміляції атмосферного азоту азотобактером. Вміст бактерій, що розкладають целюлозу в ґрунті, збільшується до фази кушіння ярої пшениці. Найбільше цих бактерій було на ділянках із біогумусом.

Внесення біогумусу в ґрунт прискорює мінералізацію фосфорорганічних сполук у результаті дії специфічних мікроорганізмів. Зі збільшенням норм із 10 до 30 т/га підвищується концентрація фосфороруйнівних бактерій. Вміст фосфорної кислоти в ґрунті залежить від кількості мікроорганізмів, що розкладають органічні та мінеральні сполуки фосфору.

Використання біогумусу як добрива впливає на інтенсивне зростання мікрофлори, прискорює накопичення рухомих форм поживних речовин, необхідних для підвищення врожайності сільськогосподарських культур.

6.1.3. Біопрепарати

Серед біопрепаратів, які використовують у сільському господарстві, можна виділити велику групу біофунгіцидів, основу яких складають бактерії сінної палички, наприклад: фітоспорин, баксис, алірін, бактофіт, гамаїр та ін. Біопрепарати застосовують для захисту рослин від фітопатогенів упродовж усього вегетаційного періоду й для оброблення плодів перед складанням на зберігання.

Біопрепарати, що використовуються як біофунгіциди, складаються зазвичай із селекціонованих природних штамів сапрофітних бактерій, що мають виражену біологічну активність та є безпечними для всіх екологічних ніш (грунт, рослини, комахи, тварини, людина). Такі бактерії, потрапляючи в природне середовище, виділяють велику кількість антибіотичних субстанцій, ферментів та інших біологічно активних речовин, що сповільнюють розвиток фітопатогенних бактерій і грибів. За рахунок високої швидкості розмноження та біологічної активності бактерії, що входять до складу біопрепаратів, швидко освоюють ґрунтовий субстрат, активно беруть участь у розкладанні органічних сполук, процесах амоніфікації та нітрифікації, посиленні мобілізації фосфору і калію, збагачуючи ґрунт рухомими формами поживних речовин. Біологічно активні речовини, що виділяються ними в певній концентрації, стимулюють ріст і розвиток рослин, підвищуючи їх стійкість до хвороб.

Біопрепарати з бацил, окрім захисної функції рослин від фітопатогенів, мають додаткові властивості пробіотиків для сільськогосподарських тварин і птиці, що дозволяє розширити сферу

їх практичного застосування й підвищити ступінь їх безпеки для тварин і людини при отриманні кормів і продуктів харчування із сільськогосподарських рослин.

Бактеріальне оброблення рослин, починаючи від замочування насіння і впродовж усього вегетаційного періоду, призводить до накопичення бацил у вегетувальних частинах рослини. Під час заготовлення кормів така «бактеріальна добавка» є консервантом для сіна, оскільки вона перешкоджає росту пліснявих грибів та сприяє збереженню якості сіна і зменшує кількість тепла, що виділяється.

Можна додавати біопрепарати з бацил також на стадії заготівлі кормів у вигляді кормових добавок. Кормові добавки – мікробні пробіотики, що складаються з живих мікроорганізмів роду *Bacillus*, додаються до кормів і перешкоджають їх зараженню фітопатогенами та накопиченню фітотоксинів.

Таким чином, біофунгіциди з бактерій роду *Bacillus* виконують одночасно дві функції – власне біофунгіциду (захищає рослину від зараження фітопатогенами бактеріальної, вірусної або грибкової природи) і пробіотика – мікробної добавки до кормів для сільськогосподарських тварин. Застосування біопрепаратів із бацил як біофунгіцидів дозволяє отримувати рослинні корми, що містять бацили в стромі рослин. Використання таких кормів для згодовування сільськогосподарським тваринам забезпечує високий приріст біомаси тварин і більш ефективне використання кормів, знижуючи витрати одиниці корму на одиницю ваги.

Така стимуляція зростання та розвитку сільськогосподарських тварин під впливом бацил, що містяться в кормах, відбувається

внаслідок багатофакторної позитивної лікувально-профілактичної дії метаболітів бацил на всі системи органів тварин.

Біологічно активні речовини стимулюють ріст і розвиток рослин, підвищують їх стійкість до хвороб, є досить ефективним засобом для всіх видів рослин у боротьбі проти: іржі, сірої та білої гнилі, сухої та бурої гнилі плодів (фомоз), бурої плямистості (кладоспоріоз), септоріозу (біла плямистість), кокомікозу, цитоспорозу, моніліозу, фітофторозу, корневих гнилей, виноградного зудня, яблуневої, грушевої і сливової плодохерок, листокруток, гельмінтоспоріозу, чорної ніжки, борошнистої роси, хибної борошнистої роси, плодової гнилі, парші, клястероспоріозу, мілдью, оїдіуму, бактеріального, вертицильозного і фузаріозного в'янення, яблуневої щитівки, павутинних кліщів багатьох видів та інших листогризух.

Біологічні препарати використовують упродовж усього періоду вегетації рослин, від передпосівного оброблення насіння, розсади та саджанців до остаточного збирання врожаю.

Наприклад, біологічний препарат Гуапсин являє собою водну суспензію і є універсальним препаратом, створеним на штаммах бактерій *Pseudomonas Aurefaciens* (В-111) і штаммах В-306, які модифікують важкорозчинні сполуки ґрунту в початкові дози макроелементів N, P, K. Також Гуапсин відіграє роль інсектофунгіцидного препарату для боротьби зі шкідниками та хворобами сільськогосподарських культур, що стимулює ріст рослин як азотно-фосфорне добриво. Біопрепарат Трихофіт – це екологічно безпечний препарат, виготовлений на основі гриба роду *Trichoderma*.

Гриби цього роду давно відомі, штами гриба, розмножуючись, продукують антибіотики, які знищують збудників захворювань рослин, і, використовуючи чужі грибниці як харчове середовище, знищують гриби-патогени. Внесення Трихофіту покращує фізико-хімічні властивості ґрунтів, зокрема й структурний стан, оскільки інтенсивне перероблення Трихофітом соломи, стерні та інших рослинних залишків постачає ґрунти органічними речовинами і впливає на гумусоутворення, як і підстилковий гній.

Багаторічні дослідження вченими посівів і різних зразків ґрунтів, які обробляли біопрепаратами:

- 1) істотне зниження пошкоджень рослин із кореневими гнилями і борошнистою росою;
- 2) стимулювання росту та розвитку рослин;
- 3) достовірне збільшення врожаю за рахунок збільшення продуктивної кущистості;
- 4) збільшення врожаю до 80–98 % при обробленні насіння;
- 5) посилення стійкості оброблених культур до заморозків і посухи;
- 6) збільшення врожайності на 20–50 %;
- 7) скорочення терміну дозрівання до двох тижнів;
- 8) більш тривалий термін зберігання зерна, овочів та фруктів, оброблених біопрепаратами.

Для активної життєдіяльності бактерій комплексу необхідні умови з наявністю краплинної вологості й температури в межах від +14 до +25 °С. Рекомендується проводити оброблення розчинами біопрепаратів у вечірній час або за похмурої погоди без яскравого

сонця. Також температурні умови, нижчі або вищі від оптимальних параметрів, спричиняють зниження активності мікроорганізмів, а отже, та їх ефективності.

6.2. Критерії оцінювання ефективності біотехнологічних процесів

У біотехнології під час вибору методу одержання конкретного цільового продукту обов'язково повинно проводитися техніко-економічне оцінювання альтернатив одержання подібних продуктів традиційними методами. Порівняно з відомими біотехнологічні процеси повинні бути більш технологічними, економічними та екологічними або взагалі повинні виключати альтернативи. Оцінювання альтернативності варіантів лише за собівартістю продукту – однобічна. Оцінюванням ефективності біотехнології, крім якості отриманої продукції, може бути зіставлення експериментального та теоретичного виходів продукту, розрахованих за матеріально-енергетичним балансом процесу. При цьому витрати й вартість сировини у великомасштабних біотехнологічних процесах зазвичай є визначальними, тому матеріально-енергетичне оцінювання в цьому разі дуже істотне. І, навпаки, у разі використання процесів на базі високоефективних рекомбінантних штамів-продуцентів основна частка витрат належить не до сировини, а до створення продуцента та його підтримання, а також розроблення спеціальних умов його культивування, тобто в цьому разі економіка сировинних та енергоресурсів має другорядне значення.

У будь-якому біотехнологічному процесі ключову роль відіграють біологічний агент, його природа та фізіолого-технологічні властивості. Для росту будь-якого біооб'єкта потрібні вихідний життєздатний насіннєвий матеріал, джерела енергії та вуглець, харчові речовини для синтезу біомаси, відсутність дії інгібіторів росту, відповідні фізико-хімічні умови ферментації (рН, температура, аерація та ін.).

Продуктивність процесу характеризується кількістю продукції, одержаної на одиницю об'єму біореактора за одиницю часу. **Продуктивність процесу** залежить від багатьох факторів: активності продуцента, значення коефіцієнта виходу продукту зі спожитого субстрату, кількості активної біомаси в ферментері:

$$P = q_s \cdot Y_{p/s} \cdot X, \quad (6.1)$$

де q_s – швидкість споживання субстрату (метаболічний коефіцієнт), г/г · год; $Y_{p/s}$ – вихід продукту (економічний коефіцієнт), г/г; X – концентрація біомаси, г/л; P – продукт; S – концентрація субстрату, г/л.

Процес ферментації можна оцінювати за різними показниками, використовуючи для цього відповідні розрахункові формули.

Продуктивність за біомасою (Q_x , г/л · год) розраховують:

а) для періодичного процесу

$$Q_x = \frac{X_1 - X_0}{t_1 - t_0}; \quad (6.2)$$

б) для неперервного процесу

$$Q_x = D \cdot X, \quad (6.3)$$

де X_0 – концентрація біомаси (г/л) на період часу t_0 (год); X_1 – концентрація біомаси (г/л) на період часу t_1 (год); D – коефіцієнт розбавлення або швидкість потоку (1/год), що дорівнює питомій швидкості росту (μ) для неперервного процесу; D можна порушити, якщо змінити швидкість потоку середовища або концентрацію субстрату в ньому.

Одним з основних показників, що характеризують адекватність умов ферментації, є швидкість росту продуцента. Швидкість росту (збільшення біомаси) організмів із бінарним поділом у добре перемішуваному середовищі в періодичній культурі буде пропорційною концентрації мікробної біомаси та інтервалу часу.

Питома швидкість росту (1/год):

$$\mu = \frac{X_1 - X_0}{X_1 \cdot (t_1 - t_0)}, \quad (6.4)$$

Концентрацію біомаси можна розрахувати за формулою

$$X_1 = X_0 \cdot e^{\mu(t_1 - t_0)}, \quad (6.5)$$

для log-фази розмноження $e = 2718$.

Питому швидкість споживання субстрату (q_s , г/г) можна визначити так:

$$q_s = \frac{S_0 - S_1}{X_1(t_1 - t_0)}. \quad (6.6)$$

Питома швидкість утворення цільового продукту (q_p , г/г · год):

$$q_p = \frac{P_0 - P_1}{X_1(t_1 - t_0)}. \quad (6.7)$$

Впливати на величину продуктивності можна шляхом зміни різних її компонентів, але в кожному конкретному випадку це доводиться розглядати окремо. Так, при підвищенні величини X можуть виникнути обмеження за масообмінними характеристиками апарату та обмежувальні стани; впливати на величину метаболічного коефіцієнта культури можна лише за умови глибокого знання взаємозв'язків між фізіолого-біохімічними характеристиками продуцента та умов середовища.

Вихід біомаси із субстрату ($Y_{x/s}$), або економічний коефіцієнт, можна розрахувати за формулою

$$Y_{x/s} = \frac{\mu}{q_s} = \frac{X_1 - X_2}{S_0 - S_1}, \quad (6.8)$$

де S_0 і S_1 – вихідна і кінцева концентрації субстрату.

Вихід продукту ($Y_{p/s}$) (економічний коефіцієнт) визначається як кількість продукту, одержуваного з даної кількості субстрату:

$$Y_{p/s} = \frac{q_p}{q_s} = \frac{P_1 - P_0}{S_0 - S_1} \quad (6.9)$$

Цей коефіцієнт виражає ефективність використання субстрату для отримання цільового продукту і є дуже важливою характеристикою, оскільки він безпосередньо пов'язаний із продуктивністю і дозволяє безпосередньо впливати на собівартість кінцевої продукції. Економічний коефіцієнт має чітке фізичне значення, що характеризує ступінь переходу енергії, який є в субстраті, в продукт.

Ця величина необхідна для розрахунків і прогнозування процесу в цілому і використовується як параметр для контролю та керування ходом різних процесів та зіставлення їх ефективності.

Кінцева концентрація продукту повинна бути запланована з урахуванням тривалості процесу та величини виходу продукту. Досягнення кінцевої високої концентрації продукту виправдане, якщо виділення, концентрація його трудомісткі та дорогі.

Питомі енерговитрати істотно варіюються залежно від спрямованості та схеми процесу ферментації, а також умов підготовки сировини на передферментаційній стадії і постферментаційних процедур. Питомі енерговитрати також дуже істотно залежать від типу ферментаційного обладнання. Непродуктивні витрати субстрату (h) – це витрати енергії субстрату, що не виявляються в прирості продукту. У загальному вигляді вони виражаються через економічний коефіцієнт:

$$h = Y_{\text{експериментальний}}/Y_{\text{теоретичний}} < 1. \quad (6.10)$$

Непродуктивні витрати істотно впливають на ефективність та економіку біотехнологічного процесу, тому виявлення причин і місць цих додаткових витрат енергетичного субстрату дуже важливе. Непродуктивні витрати субстрату можуть бути пов'язані з помилками при зчитуванні генетичної інформації в процесі швидкого росту продуцента і витратами на підтримання при роз'єднаному рості в результаті зниження ефективності утворення енергії в ланцюзі перенесення електронів через роз'єднання окиснення і фосфорилування, інактивацію місць сполучення, виникнення альтернативних, менш ефективних гілок із дисипацією енергії, а також через зростання витрат енергії на підтримання життя без розмноження (транспорт субстратів і мономерів у клітині, ресинтез молекул, захисні реакції, процеси репарації).

Первинне оцінювання ефективності біотехнологічних процесів за переліченими параметрами проводиться на стадії лабораторних розроблень і випробувань процесу, й потім уточнюється під час масштабування на дослідних і дослідно-промислових стадіях. У порівняльному плані економічно більш вигідними є анаеробні біотехнологічні процеси, коли різко скорочуються витрати, пов'язані з аерацією, з роботою мішалок і барботерів та ін. А отже, спрощуються конструкції апаратів і відбувається їх здешевлення.

Розділ 7

ЕКОЛОГІЧНА БЕЗПЕКА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ

Екологічна безпека передбачає:

- захист здоров'я людини від несприятливих чинників природного та техногенного середовища;
- збереження природного середовища та її відновлення за несприятливих умов;
- розвиток нових технологій із максимальною економічною ефективністю та мінімальною дією на довкілля.

Найважливішим напрямом екологічної безпеки є мікробіологічна безпека. У цьому напрямі важливим є розроблення спеціального інженерно-технічного забезпечення біотехнологічних виробництв і можливість утилізації їх відходів.

Відходи біотехнологічних виробництв належать, як правило, до типу, що розкладаються в природних умовах під дією різних факторів (біологічних – мінералізація за участі мікроорганізмів; хімічних – окислення, фізико-хімічних завдяки комплексному впливу, наприклад, променевої енергії та хімічних речовин).

7.1. Інженерно-технологічне забезпечення безпеки біотехнологічних виробництв

Біотехнологічні виробництва використовують різноманітну сировину та хімікати, випускають широку номенклатуру продукції в різних формах.

Ряд компонентів сировини, деякі види готової продукції під час потрапляння в атмосферу виробничих приміщень можуть негативно впливати на здоров'я працівників, створювати пожежо- і вибухонебезпечні аерозолі, а за недостатнього очищення технологічних викидів у довкілля – забруднювати ландшафт на значних відстанях від підприємства. Шкідливість біотехнологічних виробництв може визначатися як хімічними, так і біологічними чинниками. Тому під час проектування біотехнологічних підприємств питанням техніки безпеки, промислової санітарії та охорони довкілля приділяється особлива увага.

Щодо техніки безпеки розроблені галузеві нормативи. Крім того, на всіх підприємствах обов'язково складають документацію, що діє всередині заводу, з техніки безпеки – загальнозаводські та загальновиробничі інструкції для робочих місць за всіма стадіями і видами робіт, зазначених у виробничих регламентах.

Регламенти повинні містити повні дані про відходи, технологічні викиди та стоки, конкретні рекомендації щодо їх очищення, знешкодження, утилізації або знищення. Безумовно, так само це стосується усіх видів основної та побічної товарної продукції, що випускається й реалізовується біотехнологічним підприємством.

Найбільш надійним способом забезпечення біобезпеки біотехнологічних виробництв є організація виробництва з додержанням правил асептики.

Асептика – це комплекс інженерно-технологічних заходів, спрямованих на:

– запобігання потраплянню сторонньої мікрофлори в технологічний процес, що забезпечує ефективність технології та одержання продукту необхідної якості;

– запобігання потраплянню культивованого біологічного об'єкта з повітряними викидами і техногенними потоками в довкілля.

Технологічні процеси за ступенем асептики розрізняють:

– асептичні, такі, що повністю виключають потрапляння сторонніх мікроорганізмів у процес і потрапляння продуцента в довкілля;

– умовно-асептичні, які допускають наявність сторонньої мікрофлори в технологічному процесі та потрапляння клітин біологічного об'єкта в регламентованих кількостях у довкілля;

– неасептичні.

Усі технології, в яких використовують патогенні штами мікроорганізмів, віруси, культури клітин рослин і тварин, а також процеси одержання продуктів для медичних цілей, здійснюють в умовах асептики.

Асептичні умови виробництва забезпечуються спеціальним устаткуванням і технологією. У подібних процесах проникнення в реакційний об'єм ферментера навіть одного стороннього мікроорганізму означає порушення технологічного режиму і може призвести до одержання некондиційного продукту, а потрапляння клітин продуцента в довкілля може призвести до захворювання персоналу. Характеристика способів стерилізації подана в таблиці 7.1.

Таблиця 7.1 – Методи стерилізації

Метод	Процедура	Сфера застосування	Запобіжний захід	Обмеження
1	2	3	4	5
Сухий жар	Пряма дія сухої спеки +190 °С (80 хв) або +160 °С (130–160 хв)	Скляні лабораторні прилади та вироби з матеріалу	Висока температура може пошкодити вироби з тонкого прокату або тонкого дроту	Обмеження щодо матеріалу: високотемпературна експозиція може призвести до небажаних змін властивостей матеріалу
Автоклавування (перегрітий пар під тиском)	Три діючих компоненти: температура, водяна пара і тиск. +121 °С (15 хв) або +126 °С (10 хв)	Скло, тканини, рідини за умови стійкості компонентів до високої температури +121 °С	Не рекомендується для стерилізації більшості звичайних пластиків	Необхідність забезпечення вільного відходження повітря з виробів до початку стерилізації; зазвичай застосовують для невеликих виробів
Газовий (етиленоксид)	Використовується індивідуально, а також у суміші з фреоном або карбондіоксидом. +55–60 °С (2–3 год) або +27–33 °С (5 год 30 хв)	Практично будь-які матеріали, за деякими винятками	Необхідна постстерилізаційна вентиляція для видалення залишків газу, що можуть бути токсичними	Етиленоксид – газ токсичний і вибухонебезпечний; процедура стерилізації не економічна

Продовження таблиці 7.1

1	2	3	4	5
Гамма-радіація (радіоактивне джерело – кобальт)	Радіація, що випромінюється відповідним джерелом частинок	Широко використовується для стерилізації одноразових виробів	Властивості деяких матеріалів можуть змінюватися під впливом гамма-радіації небажано	Небажаний вплив на властивості матеріалів має кумулятивний ефект, і повторна стерилізація після неї не допускається
Бета-радіація (прискорювач частинок)	Електронний потік високої енергії	–	–	–
Хімічний (формальдегід)	Речовина у вигляді пари	Мінімально використовується у промисловості	Токсичний	Потребує спеціального обладнання

Умовно-асептичні процеси здійснюються:

– під час твердофазового культивування біооб'єкта з метою одержання біомаси, що використовується для кормових цілей, отримання препарату для біоремедіації забруднених природних середовищ, одержання антибіотиків;

– під час глибинного культивування біооб'єкта на субстратах, що є антисептиками, наприклад, на метанолі, оцтовій або молочній кислоті;

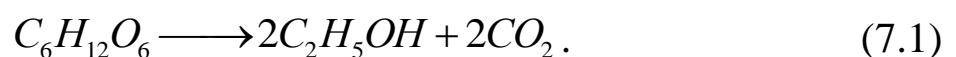
– під час культивування біооб'єкта в умовах, які не є оптимальними для розвитку інфікуючої мікрофлори (рН 4–5; рН 8–11; занадто низька або занадто висока температура та ін.).

У технологіях умовно-асептичних процесів проводиться часткова стерилізація потоків, що надходять на стадію культивування. Зазвичай це теплова стерилізація вихідного живильного середовища і додержання всіх заходів, спрямованих на отримання чистої культури – інокуляту, а також на створення умов культивування, що сприяють зростанню промислового штаму. Отже, повітря, що подається в цих процесах, не стерилізується.

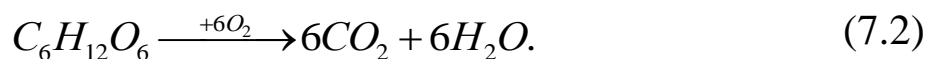
При анаеробному знезараженні рідких і твердих органічних відходів різного походження (комунальні, промислові стоки, тверді побутові відходи, відходи агросектору) немає необхідності використовувати методи стерилізації. Під час оброблення стічних вод в аеробних системах очищення на стадії скидання очищених стоків у водні об'єкти необхідно проводити додаткове знезараження.

7.1.1. Системи очищення газоповітряних викидів біотехнологічних виробництв

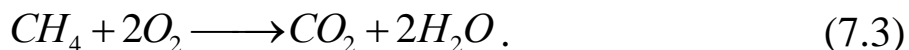
Газоподібні відходи в процесах біологічної технології нечисленні в асортименті. Це визначається біохімічною сутністю реакцій, що каталізуються ферментами. Зазвичай енергетичним субстратом для біооб'єктів є вуглеводи. В аеробних і анаеробних умовах із них утворюється діоксид вуглецю. Так, при бродінні (гліколітичний процес) із глюкози утворюється 2 молі CO_2 :



При аеробному диханні (окиснювальний процес) – 6 молів CO_2 :



При вирощуванні метаноокиснювальних бактерій із CH_4 також утворюється CO_2 :



Діоксид вуглецю, що виділяється, вловлюється та утилізується в харчовій промисловості як холодоагент.

Газоподібним відходом біотехнологічних виробництв, що базуються на використанні аеробних мікроорганізмів, є «відпрацьоване повітря». Воно не повинно надходити в атмосферу без очищення і знешкодження. Відпрацьоване повітря при цьому найчастіше являє собою високодисперсний аерозоль, в якому дисперсною фазою є краплинки рідини і/або мікроорганізми. Швидкості падіння аерозольних частинок залежать від їх розмірів і зміщення повітряних потоків. Для деяких із них швидкості падіння наведені в таблиці 7.2.

Таблиця 7.2 – Швидкості седиментації частинок (густина, г/см) із високодисперсних аерозолів (в'язкість повітря – $1,82 \cdot 10^{-4}$ пуазів, t – 293 К)

Радіус частинок, мкм	Критерій Рейнольдса	Швидкість седиментації, м/с	Броунівський рух, м/с
3	0,366	$0,11 \cdot 10^{-2}$	$2,84 \cdot 10^{-4}$
1	$1,43 \cdot 10^{-2}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	$5,07 \cdot 10^{-6}$
0,3	$4,62 \cdot 10^{-2}$	$1,39 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$
0,1	$2,45 \cdot 10^{-5}$	$2,23 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-5}$
0,03	$1,37 \cdot 10^{-6}$	$4,16 \cdot 10^{-7}$	$5,5 \cdot 10^{-5}$
0,01	$1,26 \cdot 10^{-7}$	$1,14 \cdot 10^{-7}$	$1,06 \cdot 10^{-4}$

Із таблиці 7.2 бачимо, що зі зменшенням розміру частинок їх седиментація помітно зменшується, але зростає броунівське зміщення. Ось чому високодисперсні аерозолі легко можуть переноситися повітряними потоками на великі відстані, і тому не виключений їх несприятливий вплив на чутливі контингенти осіб, які вдихають мікробні аерозолі.

Відпрацьоване повітря, що містить мікроорганізми (наприклад, хвороботворні продуценти екзотоксинів), повинне бути термічно обробленим і лише після цього піддаватися фільтраційному очищенню.

Під час реалізації біотехнологічних процесів необхідно здійснювати постійний (безперервний) контроль за якістю відпрацьованого повітря, що викидається в атмосферу.

Багато біотехнологічних процесів відбуваються з виділенням тепла, яке може бути побічним продуктом біохімічних реакцій. Нерідко таке тепло втрачається і практично не використовується, лише в окремих виробництвах воно реутилізується.

Технологічні потоки викидів різних біотехнологічних підприємств дуже відрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями й вмістом у них «біологічного фактора». Виходячи з цього, при створенні технічних систем локалізації викидів ураховують:

- фізико-хімічні властивості потоків (температуру, вологість, рН, питому вагу та ін.);
- кількісну та якісну характеристики біологічно активних частинок (фракційно-дисперсний склад, стійкість та ін.).

Основними газоповітряними викидами (ГПВ) біотехнологічних виробництв є аерозолі, нестабільні дисперсні системи, що складаються з дрібних твердих частинок (клітин, їх агрегатів) у рідкій фазі, завислі в газовому середовищі.

Усі організовані джерела ГПВ від ферментерів, сепараторів, флотаторів, центрифуг, сушарок, пакувального відділення та іншого технологічного обладнання оснащуються системами очищення, нерозривно пов'язаними з технологічними особливостями окремих стадій процесу.

Найбільш поширеними, апробованими методами очищення ГПВ від біологічно активних частинок є фільтрація, теплове оброблення і «мокрі» системи очищення.

За своїм складом основна маса ГПВ умовно може бути поділена на 2 групи:

- ГПВ, що містять живі клітини мікроорганізмів, краплі культуральної рідини з продуктами метаболізму і піну;
- ГПВ, що містять сухі клітини мікроорганізмів (білковий пил) або дрібні частинки цільового продукту.

Очищення ГПВ першої групи передбачає наявність спеціального сепаратора для відділення крапель і піни з подальшим очищенням від клітин мікроорганізмів у скрубєрі Вентурі на 99,99 %.

Очищення ГПВ другої групи, де основним компонентом є білковий пил, вміст якого досягає 200–300 мг/м³, передбачає використання в технологічній схемі двохетапного скрубєра Вентурі для забезпечення ефективного очищення до значення ГДК.

Під час очищення газових викидів основним завданням є руйнування аерозолію. Час руйнування аерозолів визначається швидкістю седиментації (осадження) дисперсних частинок або швидкістю їх коагуляції (збільшення за рахунок об'єднання частинок).

Більшість методів боротьби з аерозолями ґрунтується на інтенсифікації процесів злиття рідких частинок. Для цього часто використовують пористі керамічні або металеві елементи.

На першій стадії очищення газоповітряних викидів від ферментерів на початку відвідної труби застосовують фільтри, заповнені металевими стружками (тумановловлювачі) або керамічними кільцями Рашига, на яких відбувається часткове збільшення крапель аерозолію і повернення їх на стадію ферментації.

На стадіях ферментації та сепарації основними системами очищення повітря, що відходить від клітин мікроорганізмів, є скрубери Вентурі з краплевіддільником або двоступенева система, що складається зі скрубера Вентурі та сітчастого тумановловлювача.

Нержавіюча сітка трикотажного плетіння тумановловлювача розміщена перпендикулярно до руху газоповітряного потоку. Дрібні краплі аерозолію, що містять клітини промислового штаму, зіштовхуючись із сіткою, збільшуються і стікають у нижню частину апарата. Стабільність і ефективність роботи установки з тумановловлювачем досягається за рахунок безперервної регенерації сітки тумановловлювача без припинення основного технологічного процесу.

Під час додержання технологічного режиму, зокрема якості й кількості зрошувальної води, перепаду тиску за газовою фазою, при «мокрому» очищенні знижується концентрація мікробовмісних частинок у технологічних газах, що відходять від ферментерів (при культивуванні дріжджів) у середньому на 4–5 порядків, забезпечуючи рівень, нижчий за 10^2 кл/м³, тобто нижчий, ніж ГДК клітин у повітрі робочої зони. Зона поширення клітин в основному обмежена відстанню 150–200 м від джерела викиду. Ефективність такої системи очищення становить 99,9 %.

У біотехнологічній промисловості широко використовують розпилювальну сушарку. Розпилювальні сушарки являють собою вертикальний циліндричний апарат із конічним днищем. Вихідна суспензія або розчин за допомогою розпилювального пристрою диспергують на дрібні краплі діаметром 10–100 мкм, що призводить до розвитку міжфазової поверхні та інтенсивності випаровування вологи в потоці нагрітого сушильного агента (100–150 °С).

Час перебування матеріалу в сушарці – 15–20 с. При цьому матеріал нагрівається до температури 40–60 °С (не вищої, ніж температура мокрого термометра). На днище апарата осідає 70–80 % висушених частинок, що відводяться шнеком або за допомогою пневмотранспорту на упаковку. Інша частина більш дрібних частинок виноситься з апарата сушильним агентом і вловлюється системою газоочисних установок (ГОУ).

Для одержання продуктів, в яких після висушування потрібно зберегти життєдіяльність мікроорганізмів і високу біологічну активність (хлібопекарські дріжджі, амінокислоти, антибіотики,

ферменти та ін.), використовують більш м'які умови сушіння за температури 40–50 °С. Оскільки за цих умов знижується інтенсивність випаровування вологи, то процес сушіння часто проводять під вакуумом.

Для забезпечення стерильності висушуваних продуктів сушильний агент (зазвичай повітря) перед поданням до сушильної камери необхідно очистити, наприклад стерилізувальною фільтрацією.

Для одержання продуктів, що не вимагають збереження життєдіяльності мікроорганізмів або забезпечення їх високої біологічної активності, використовують більш жорсткі, інтенсивні режими сушіння.

Для очищення газоповітряних потоків сушильних установок використовують різні технологічні рішення, що залежать від схеми процесів сушіння. Використовують і замкнений контур циркуляції теплоносія й повітря пневмотранспорту.

Очищення газоповітряних викидів після розпилювальних сушарок проводять також двома етапами: перший – «сухе» очищення в циклонах; другий – у скруберах Вентурі. Загальна ефективність такої системи становить у середньому 99,5 %.

Щоб не допустити потрапляння готового продукту в атмосферне повітря, розроблено кілька технологічних схем процесу сушіння. Зокрема, розроблена сушильна установка, до якої входить конденсатор для виведення випаровуваної вологи. Це дозволяє повністю замкнути контур циркуляції за схемою: повітропідігрівач –

сушильна камера – циклонна група – апарат «мокрого» очищення – конденсатор – підігрівач повітря (рис. 7.1).

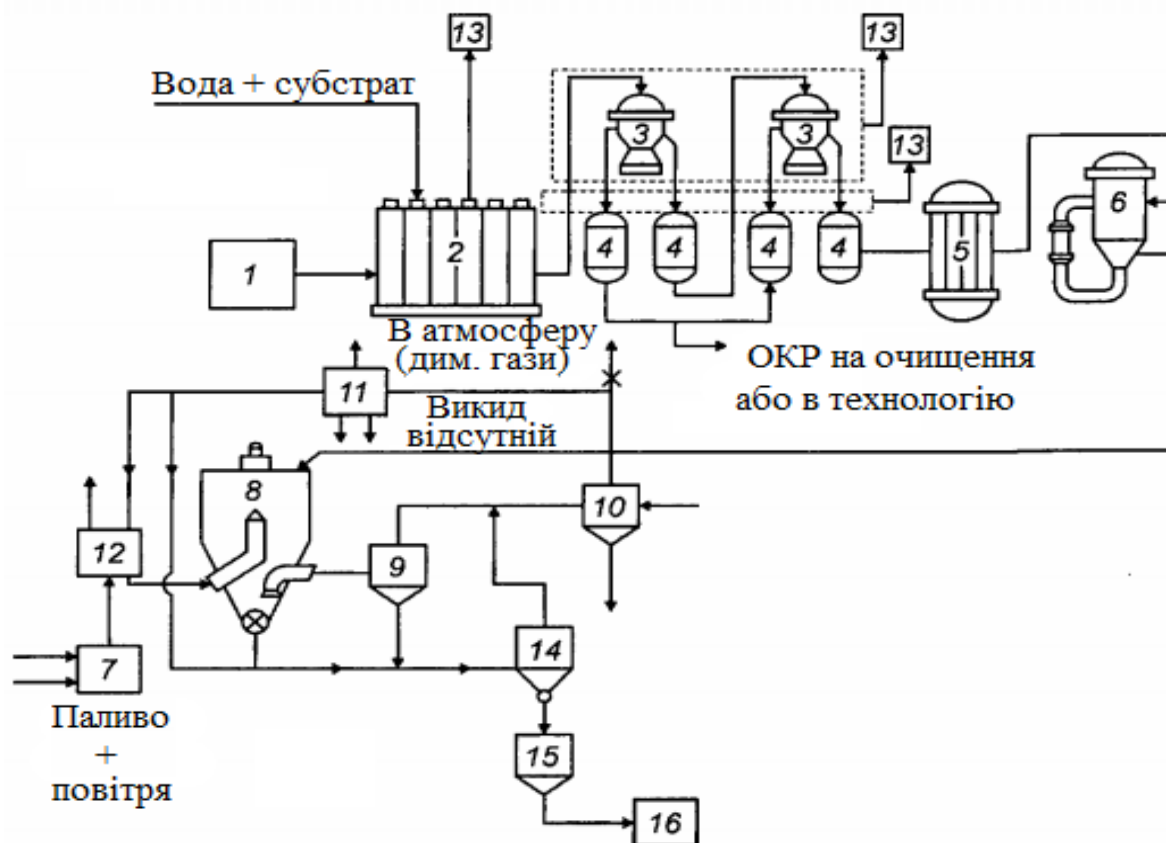


Рисунок 7.1 – Технологічна схема з використанням замкнутого контура циркуляції відпрацьованого повітря: 1 – апарат для приготування чистої культури; 2 – ферментер; 3 – сепаратори I і II ступенів; 4 – збирачі дріжджової суспензії; 5 – плазмолізатор; 6 – випарний апарат; 7 – топка; 8 – сушильна камера; 9 – циклонна група; 10 – апарат «мокрого» очищення; 11 – конденсатор; 12 – підігрівач повітря; 13 – газоочисні установки; 14 – циклон-розвантажувач; 15 – бункер-накопичувач; 16 – пакувальна машина (Н. Б. Градова, 2010)

У цьому разі в атмосферу викидається лише частина відпрацьованих паливних газів із повітропідігрівача, що не мають контакту з пилом висушеного продукту.

Така система очищення дозволяє повністю виключити потрапляння сухих частинок біооб'єкта в атмосферне повітря.

Для очищення біогазу від сірковмісних домішок може використовуватися система десульфiризації, в якій знаходяться скруббер і біофільтр з іммобілізованою накопичувальною або чистою культурою тiобацил (рис. 7.2).

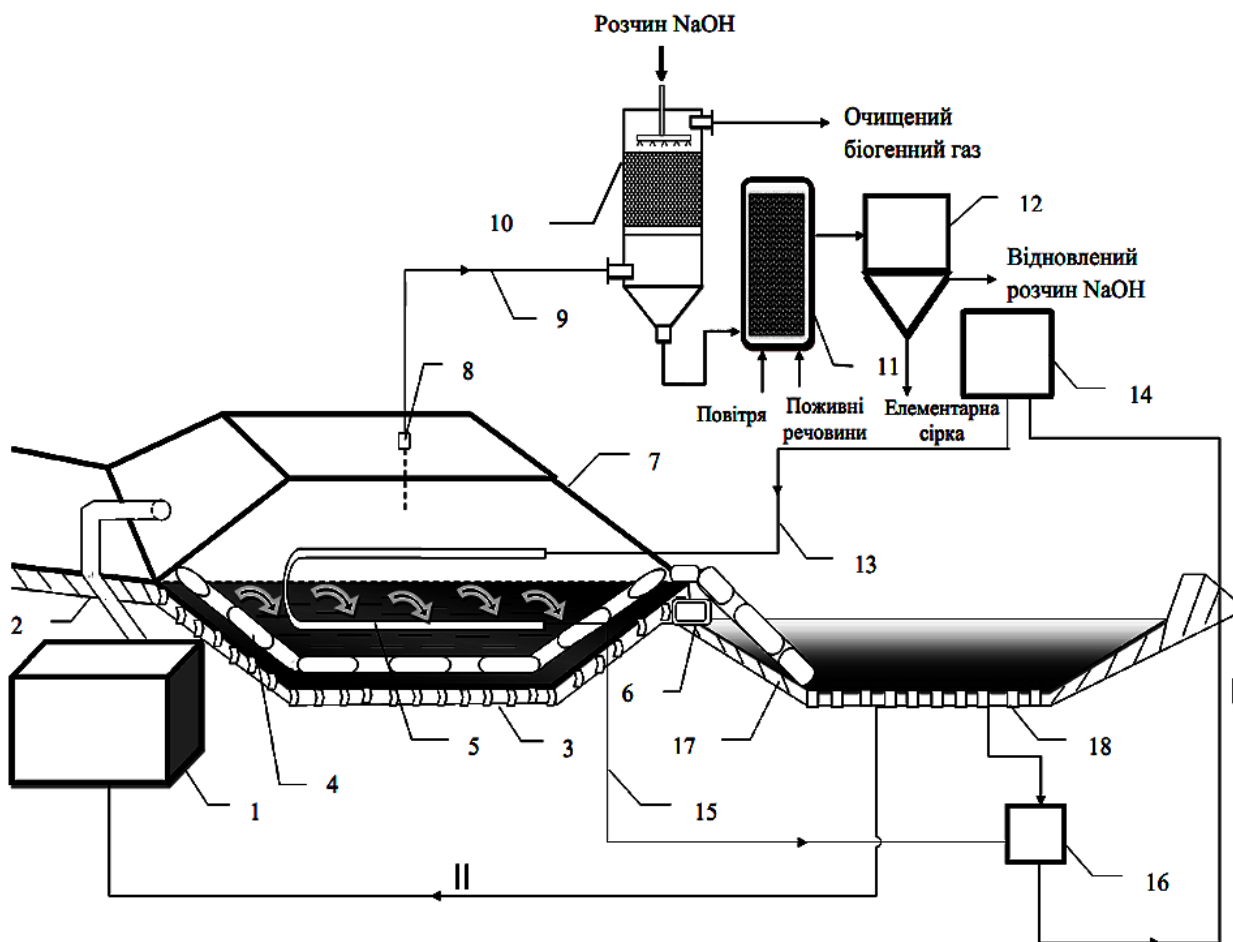
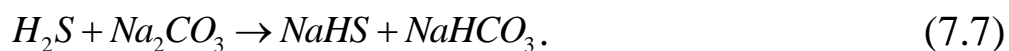
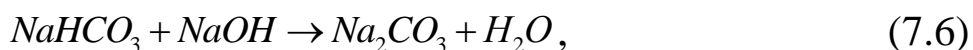
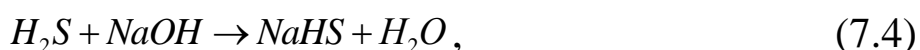


Рисунок 7.2 – Принципова технологічна схема біосульфідного знешкодження ОСВ (Є. Ю. Черниш, 2014)

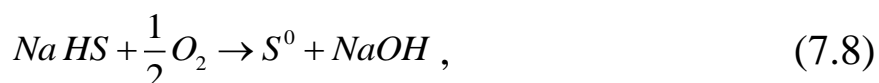
У теплообмінник (5) як теплоносій трубопроводом (13) надходить рідка фракція зброджених відходів, очищена до рівня, придатного для повторного використання, і підігріта у водогрійному котлі (14). Охолоджена в теплообміннику (5) рідка фракція трубопроводу (15) повертається через вузол (16), призначений для змішування потоків рідкої фракції, і по лінії I передавання її у водогрійний котел (14). Поділ зброджених відходів на тверду і рідку фракції реалізується на муловому майданчику (17) з ізольованим дном та дренажною системою (18).

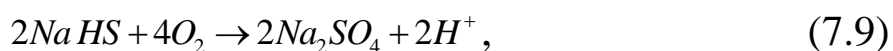
Тверда фракція – екологічно чисте органомінеральне добриво. При цьому частина твердої фракції по лінії II подається на вході в біореактор (3) у накопичувальну ємність (1) як закваска, що містить сформовану сульфідогенну асоціацію мікроорганізмів.

Наступні реакції в скрубєрі відбуваються за подачі біогенного газу під тиском, вищим за атмосферний (до 75 барів) із використанням каустичної соди як розчинника:

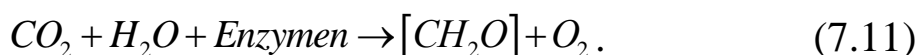


Розчинений водень сульфїду (HS-) із скрубєра подається в біофільтр, де за атмосферного тиску і в аеробних умовах у процесі метаболїзму бактерїї відбуваються такі реакції процесу біосульфїризації:





Відзначимо, що обмежені можливості різних видів *Thiobacillus* *sp.* (наприклад, *Th. Intermedius* і *Th. Permetabolis*) до зростання в автотрофних умовах пов'язані з можливостями цих бактерій використовувати вуглекислоту для утворення різних компонентів клітин:



На утворення сульфату натрію припадає менше ніж 5 % від загального сульфідів. Переважно весь гідроген сульфід (95–96 %) зазнає трансформації з утворень елементарної сірки (рис. 7.3).

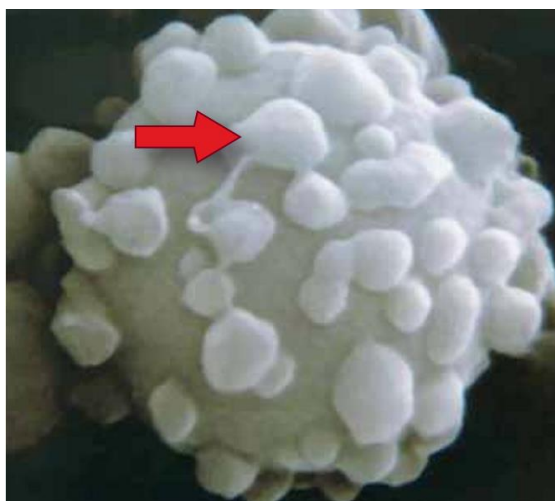


Рисунок 7.3 – *Theobacillus bacteria* з утвореннями елементарної сірки на поверхні (відзначено графічно стрілкою)

7.1.2. Системи очищення стічних вод біотехнологічних виробництв

Рідкі відходи в біотехнологічних виробництвах досить різноманітні за своїм складом. Це пояснюється неповним використанням біооб'єктами компонентів, що входять до складу

живильних середовищ; наявністю речовин (крім цільових метаболітів), що секретуються клітинами; наявністю розчинників, використовуваних, наприклад, для екстракції кінцевих продуктів, і т. д. Розглянемо, наприклад, сульфітні луги, що утворюються на підприємствах целюлозно-паперової промисловості в результаті гідролізу деревини і використовуються для вирощування кормових дріжджів. Вони містять у середньому 50–60 % сульфонату лігніну, 7–8 % цукрових сульфокислот, близько 18 % різних цукрів, 10 % діоксиду сірки, 8 % солей кальцію. Після значного видалення сульфіту і підготовки лугу (розведення, внесення деяких поживних інгредієнтів) його використовують для вирощування адаптованої раси дріжджових організмів.

Утворена клітинна маса є цільовим продуктом, а відходом – культуральне середовище після відділення дріжджів. Рідкі відходи дріжджових заводів, де виробляють дріжджі на м'ясному суслі, містять органічні та мінеральні речовини (мг/л у середньому): етанол – 0,45; вуглеводи (зокрема, зброджувані) – 1,0; загальний азот – 0,8; азот неорганічний – 0,13; зольні елементи – 5,4. БСК таких відходів становить близько 20 000 частин O_2 на 1 млн, тобто приблизно стільки, скільки і БСК для каналізаційних вод. Відходи, що утворюються від 1 000 т м'яса, відповідають побутовим стокам міста з населенням близько 0,5 млн жителів. Подібні рідкі відходи піддають мікробіологічному обробленню (анаеробному або аеробному).

Стічні води бродильних підприємств нерівноцінні. Так, одні з них можна назвати умовно чистими, оскільки вони майже не

відрізняються від споживаної у виробництві природної води (конденсату, вода з теплообмінників). Інші води є забрудненими неорганічними та органічними домішками, що потрапляють: 1) від сировини (забруднення під час транспортування, миття картоплі, буряка); 2) від устаткування (миття технологічної апаратури). Чисті води можуть бути використані повторно у технологічних процесах, або спрямовані в чисті водойми; забруднені води звільняють від механічних домішок, а потім спрямовують на знешкодження.

У виробництві антибіотиків, крім води, використовують вуглеводи і вуглеводні продукти, масла, соєве борошно, кукурудзяний екстракт, нітрати, солі амонію, сірко- і фосфоровмісні сполуки, можливі попередники антибіотиків (наприклад, амід фенілоцтової кислоти як попередник пеніциліну; н-пропанол як попередник еритроміцину і т. д.), неорганічні кислоти і луги, органічні екстрагенти та ін.

Відмінною особливістю біотехнологічних процесів, що ґрунтуються на виділенні метаболітів із культуральних рідин, є нерівномірне співвідношення цільового продукту і рідини (рідкого середовища), в якій він перебуває (частіше – 1:100, 1:200, тобто 1 %, 0,5 % і менше). У подібних виробництвах кількість рідких відходів помітно більша, ніж твердих. Якщо останні містяться у значних кількостях у стічній рідині, то їх відокремлюють, відтискують і знешкоджують (див. тверді відходи).

Стічні води на держпідприємствах містять 1–2 % органічних речовин і 98–99 % води. При використанні мікробного оброблення таких стоків в аеротенках (наприклад, за участі сапрофітних бактерій

із роду *Afthrobacter*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* і деяких інших) можна одержувати цінні мікробні добрива.

Усі рідинні стоки виробництва можуть бути поділені на потоки основного й допоміжного виробництва.

До стічних вод основного виробництва належить передусім відпрацьована культуральна рідина, що утворюється при відокремленні біомаси від рідкої фази, яка становить 80 % від загального обсягу стоків виробництва. До цієї групи належать також потоки зрошувальної води системи газоочищення, скрубєрів Вентурі, промивні води зі стадії сепарації, вода від промивання устаткування, вода з охолоджувальних систем.

Стоки допоміжного виробництва після очищення можуть використовуватися для підживлення оборотних охолоджувальних систем водопостачання у виробництві, а також для компенсації втрат води при випаровуванні та краплинному винесенні на градирнях.

Для оброблення контамінованих мікроорганізмами промислових стоків використовують хімічні, біохімічні та фізичні методи, а також їх комбінації.

Хімічні методи базуються на введенні в стоки відповідного хімічного реагенту в певній концентрації за оптимальних умов довкілля: температури, масоперенесення, величини рН і тривалості експозиції та ін. Установлено, що хімічні методи інактивації навіть вегетативних форм мікроорганізмів вимагають значних концентрацій хімічного реагенту в оброблюваному середовищі під час усього процесу, адекватного змішування його зі стоками, підвищених температур і тривалих експозицій.

Після завершення оброблення стоків хімічними реагентами перед скиданням їх у каналізацію і відправленням на біологічне очищення надлишок хімічного агента, що не прореагував, необхідно нейтралізувати для збереження необхідної активності мікрофлори біофільтрів або активного мулу.

Все це робить хімічне оброблення дуже ненадійним і неекономічним, тому воно не стало поширеним у мікробіологічних виробництвах.

Із фізичних методів можуть використовуватися: іонізувальна радіація, ультрафіолетове випромінювання, вплив ультразвуком, зворотний осмос та ультрафільтрація, термічне парове оброблення.

Термічна парова деконтамінація стоків може здійснюватися в системах, що працюють за циклічним або безперервно-проточним принципом.

Кількість апаратів (n) певної ємності визначають за таким рівнянням:

$$n = \frac{Q \cdot \tau}{24 \cdot Y \cdot K_3}, \quad (7.12)$$

де Q – добова кількість стоків, м; Y – повна ємність апарата для збирання стоків та їх термооброблення; K_3 – коефіцієнт заповнення апарата (для процесів без спінювання – 0,7–0,85, зі спінюванням – 0,4–0,6); τ – тривалість одного циклу, включаючи операції огляду й підготовки апарата, приймання стоків, нагрівання їх до температури оброблення, витримування, охолодження і скидання в каналізацію, год.

Типовий режим парового оброблення передбачає нагрівання до 128 °С, витримування впродовж 30 хв (іноді до 1 години) та охолодження до 40 °С.

Недоліком роботи апаратів циклічної дії є їх відносно низька продуктивність.

Більш широко використовують безперервно-потоківий метод, розрахований на швидке нагрівання рідин у безперервному потоці до температури знешкодження, витримування впродовж секунд або хвилин і швидке охолодження.

Під час роботи в сталому режимі стоки зі збирача подають насосом у рекуператор, де вони попередньо нагріваються шляхом теплообміну з гарячими стоками, що відходять з установки після витримування за температури оброблення і надходять потім у паровий нагрівач. Нагріті в ньому до температури деконтамінації стоки проходять через витримувач, далі – через рекуператор та охолоджувач, після цього подаються на біологічне очищення. Показник температури на виході з витримувача блокується вентилями так, що якщо температура нижча від необхідної для деконтамінації, то стоки за рециркуляційним контуром повертаються до збирача стоків, а не скидаються.

Загальноприйнятими методами очищення стоків промислових підприємств, зокрема й біотехнологічних, є біологічні, що базуються на здатності мікроорганізмів використовувати як джерела живлення забруднення стічних вод.

Найбільшою технічною складністю при очищенні стічних вод підприємств із виробництва біомаси мікроорганізмів є їх звільнення

від біогенних елементів – азоту, фосфору та аніонів сильних кислот (сульфатів і хлоридів), що входять до складу живильного середовища при культивуванні біооб'єкта. За оцінюванням експертів, витрати на очищення стічної води можуть досягати 30–40 % вартості підприємства.

Виходячи з цього, очевидно, що підвищення ефективності очищення рідинних потоків біотехнологічних виробництв пов'язане з удосконаленням основного технологічного процесу. Одним із таких підходів є повторне використання відпрацьованої культуральної рідини на стадії культивування, що призводить до зниження загальної витрати водоспоживання у виробництві, сировини (елементів мінерального живлення) і потоку, що надходить на стадію біологічного очищення. Однак обсяг культуральної рідини, що повертається, обмежений – не більше ніж 70 % – унаслідок накопичення в середовищі культивування продуктів метаболізму.

Принциповим вирішенням цієї проблеми є розроблення процесу одержання біомаси мікроорганізмів при замкненому циклі водовикористання. Реалізація такої технології вимагає регулювання складу живильного середовища, особливо регулювання подачі у ферментер біогенних елементів.

Під час замкненого циклу водовикористання стадія біологічного очищення стічних вод розглядається як друга стадія ферментації. Розробляються режими подачі елементів мінерального живлення, очищення стоків, повернення очищених рідинних потоків на стадію ферментації в умовах єдиної технологічної системи.

Реалізація замкненої системи водовикористання на заводі щодо одержання кормових дріжджів із н-парафінів дозволила повністю виключити скидання стічних вод у природне водоймище, скоротити витрату свіжої води на технологічні потреби з 130–160 м³ на 1 т продукту до 14 м³/т.

Для забезпечення екологічно чистого виробництва біомаси мікроорганізмів необхідно:

- приготування живильного середовища з використанням солей, що запобігають утворенню шламів (наприклад, рідкого амоній-фосфату) для виключення твердих відходів;
- виключення скидання промислових стічних вод за рахунок повернення у виробничий процес відпрацьованої культуральної рідини або біологічно очищеної води;
- використання сушильних і грануляційних установок із замкненим контуром циркуляції теплоносія для усунення потрапляння пилу готового продукту в атмосферне повітря;
- виключення пилення при вантажно-розвантажувальних роботах на транспорті та в споживача за рахунок випуску гранульованого продукту.

Залежно від якості стічних вод можливе також їх очищення до доцільного рівня (наприклад, одержання зворотної води, що реалізується повторно в тому самому біотехнологічному виробництві). На рисунку 7.4 подана схема біологічного очищення стічних вод.

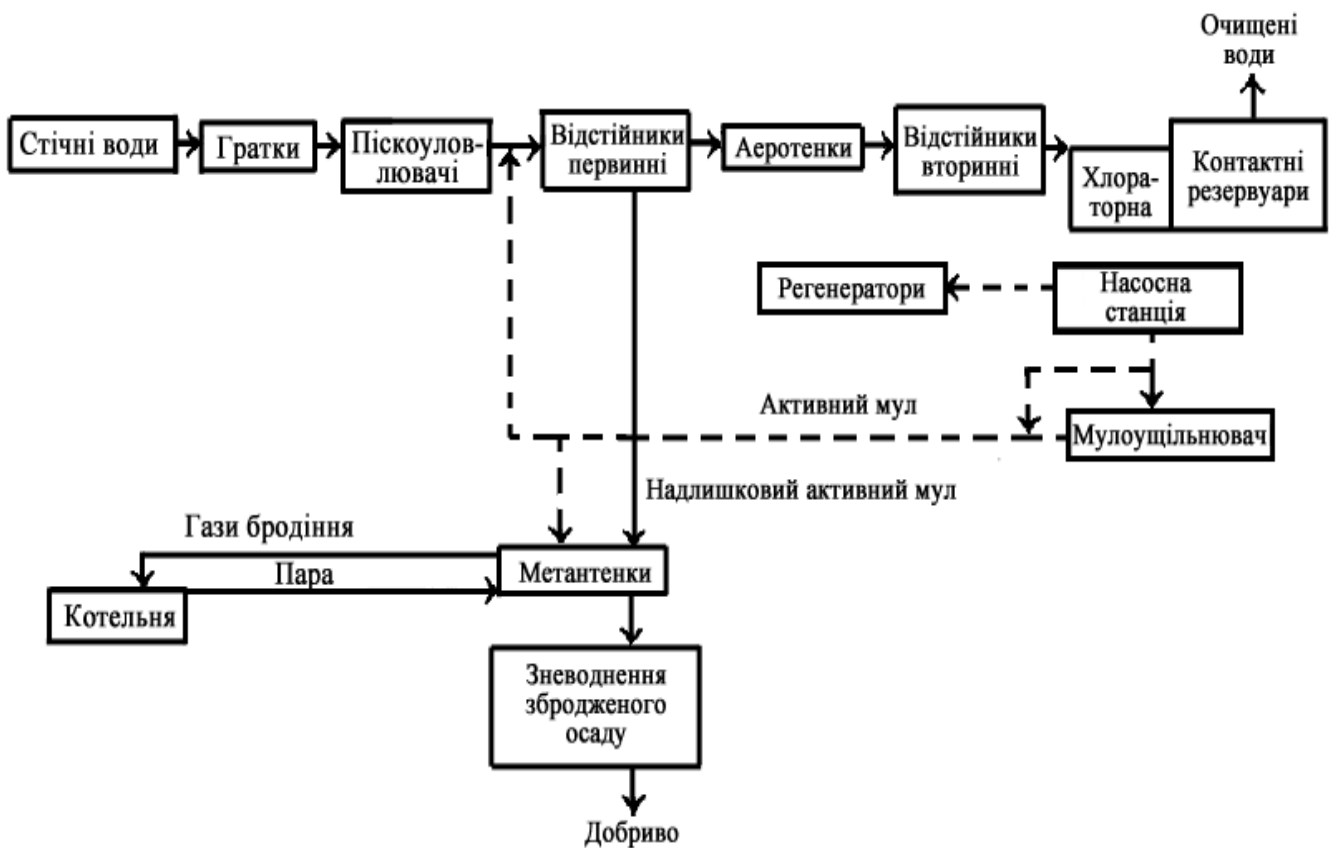


Рисунок 7.4 – Схема біологічного очищення стічних вод (Н. П. Елінов, 1995)

Розчинені органічні речовини можна видаляти за допомогою активного мулу в аеротенках або при аеробному обробленні, на біологічних краплинних фільтрах; нітрати знешкоджують за допомогою мікробів-денітрифікаторів (*Pseudomonas spp.*, *Bac. licheniformis*, *Paracoccusdenitrificans*, *Thiobacillusdenitrificans*), солі фосфорної кислоти коагулюють і осаджують. Знову утворені тверді (густі) опади концентрують, зневоднюють (фільтруванням, центрифугуванням, відстоюванням на піщаному шарі), а потім спалюють або використовують як добриво.

Таким чином, під час оброблення стічних вод до рівня чистої води можна виділити такі фази: відділення великих частинок, що легко осідають, і масляних плівок (грубе очищення), відділення

суспендованих частинок та розчинених органічних речовин (помірне тонке очищення) і, нарешті, відділення всіх інших домішок (тонке очищення). При грубому очищенні відокремлюються частинки розміром 100 мкм і більше, при помірно тонкому – від 1 до 100 мкм, при тонкому – від 0,1 до 1 мкм.

Тонкого очищення стічних вод послідовно досягають за допомогою фільтрації через піщані шари, хлорування, фільтрації через активоване вугілля, упарювання (рідинної екстракції, виморожування, зворотного осмосу), іонного обміну.

Якщо в цій фазі утворюються опади (тверді речовини), то їх приєднують до інших опадів та оброблюють як зазначено вище. В усіх випадках організації біотехнологічних виробництв необхідно передбачати роздільні системи стоків – технологічних і комунальних.

Таким чином, оброблення відходів може бути умовно поділене на 4 стадії:

1) руйнування складних білкових комплексів (в основному – їх кон'югатів) до простих розчинних речовин і відділення їх від нерозчинних субстанцій;

2) розрідження й анаеробне оброблення нерозчинного залишку за допомогою відповідних мікроорганізмів;

3) трансформація органічного азоту до NH_4^+ (амоніфікація) з подальшим окисненням амонію до нітратів;

4) перетворення органічного вуглецю на CO_2 .

У цих стадіях (переважно на першій, третій і четвертій) підкреслена біохімічна сутність явищ, що відбуваються, а процесуальна технологічна схема оброблення відходів в

узагальненому вигляді наведена на рис. 7.4. Нерозчинний залишок (стадія 2) може бути використаний для одержання метану.

7.1.3. Знешкодження твердих відходів біотехнологічних виробництв

Тверді відходи в біотехнологічних виробництвах становлять мікробну масу, відокремлювану від культурального фільтрату, що надходить на наступні стадії виділення цільового продукту; шлами (від нім. *Schlamm* – бруд); рослинну біомасу після екстракції з неї діючих речовин (а в разі суспензійної культури, яка продукує метаболіти в живильне середовище, відходами є клітини); залишки курячих ембріонів при культивуванні, наприклад, вірусу грипу; деякі тканинні культури ссавців; опади зі стічних вод (мул). Підраховано, що в комунальних очисних спорудах стічні води від одного городянина утворюють за 1 рік близько 500 літрів мулу із середньою вологістю 5 %. Якщо міське населення в країні становить 100 млн осіб, то за 1 рік накопичиться 47,5 млн м³ такого мулу. Якщо додати майже таку саму кількість промислових опадів, включаючи тверді відходи біотехнологічних виробництв, то необхідно докласти великих зусиль і засобів для знешкодження їх або утилізації.

Давноосвоєними біотехнологічними виробництвами в багатьох країнах світу є промислові способи одержання пива, дріжджів, вин та ін. На прикладі лише пивоваріння можна зазначити, що твердими відходами тут є дріжджові клітини (0,25–0,40 кг на 1 ковток пива), солодова і хмельова дробини, білковий осад із сепараторів. Залишки хмелю (хмельова дробина) і білка містять гіркоти, через які вони не

вживаються як добавки до раціонів кормів для тварин. Тому такі залишки або спалюються (що нерентабельно), або передаються на біологічне знешкодження. За оптимальних середовищ та аерації біомаса клітин нитчастих грибів і дріжджів може становити 2,5 % у перерахунку на суху масу, причому близько 50 % у ній припадає на білки.

Якість твердих відходів певною мірою диктує вибір методу їх знезараження. Так, патогенні мікроби – продуценти сильних отрут (токсинів) – повинні бути знешкоджені повністю, і, очевидно, найбільш ефективний спосіб для цього – спалювання. Якщо відходом є біомаса клітин стрептоміцетів, то їх достатньо знищити нагріванням із подальшим вивезенням на ферми, де її можна додавати до кормів худобі (наприклад, ущільнені відходи у виробництві тетрациклінових антибіотиків, що містять білки і вітамін В₁₂), вносити в ґрунт як органічне добриво; передавати на загальноміські очисні споруди, а також на метанове бродіння. Якщо за технологічною схемою тверді й рідкі відходи подають у вигляді змішаного стоку, то спочатку здійснюють грубе розділення перших від других, потім проводять відтискування вологи з подальшим передаванням ущільненої біомаси клітин на знешкодження вищезазначеними шляхами.

Аналогічно підходять до твердих відходів рослинного або тваринного походження – токсичні спалюють, нетоксичні за можливості відправляють на утилізацію.

При знешкодженні твердих відходів у мікробіологічних виробництвах лише знищенням необхідно мати на увазі антигенні особливості такої мікробної біомаси (здатність викликати утворення

антитіл *in vivo*) – у будь-якому разі необхідно виключити сенсibiliзувальну (від лат. *sensibilis* – чутливий) дію її на макроорганізм для уникнення можливих алергічних захворювань.

В аеротенках очисних споруд, де відбувається знешкодження відходів, лімітованими факторами є переважно якість і площа біологічної плівки, що складається з мікро- і макрофлори, мікро- та макрофауни. У зв'язку з цим необхідно бути переконаним, що додавані тверді відходи, багаті органічними речовинами, не призведуть до погіршення роботи аеротенків.

При анаеробному метановому бродінні практично будь-які органічні речовини (за винятком лігніну) можуть бути субстратами, що трансформуються до метану і діоксиду вуглецю. Метан використовують як паливо, вуглекислоту – в харчовій промисловості у вигляді «сухого льоду». Твердим залишком після метанового бродіння (приблизно 40 % від початкової кількості) є гумус, що використовують як добриво при вирощуванні сільськогосподарських культур.

7.2. Оцінювання санітарно-мікробіологічного стану довкілля біотехнологічних виробництв

Біологічний аерозоль, що супроводжує біотехнологічні виробництва, є основним джерелом «біологічного фактора».

Під біологічним аерозолем розуміють такий аерозоль, в якому дисперсною фазою є частинки, що мають інактивовані або життєздатні клітини мікроорганізмів, продукти їх метаболізму, а також спори мікроорганізмів і пил рослин.

Основна потенційна небезпека під час роботи з мікроорганізмами – це вдихання їх із повітрям. Під час роботи зі спорами актиноміцетів встановлено, що в глибокі відділи легень (альвеоли) можуть потрапляти частинки розміром 0,02–0,2 мкм.

Суспензійні мікробні культури легко утворюють аерозоль. Краплі діаметром 0,1 мкм швидко осідають, висихають упродовж 0,4 с, при цьому їх діаметр зменшується, і вони переносяться повітряними потоками.

Частинки аерозолю діаметром < 10 мкм затримуються в організмі на 100 %; < 5 мкм – на 20–30 %; < 0,1 мкм – на 60 %.

Під час санітарно-гігієнічних досліджень повітряного середовища визначають кількість клітин культури-продуцента, загальну забрудненість мікроорганізмами та їх груповий склад, кількість білка, а також уміст інших хімічних речовин. Метою такого дослідження є:

- виявлення джерел забруднення повітряного середовища;
- визначення складу організованих викидів, загальнообмінної вентиляції та неорганізованих викидів виробництва;
- визначення залежності ступеня забруднення повітряного середовища від особливостей технологічного процесу, обладнання та ефективності колективних засобів захисту;
- розроблення та здійснення заходів щодо поліпшення умов працівників, попередження забруднення довкілля.

Критерієм оцінювання санітарно-мікробіологічного стану повітря робочої зони є гранично допустима концентрація (ГДК) або орієнтовно безпечний рівень впливу (ОБРВ), що використовується у

виробництві штаму. Оцінювання мікробіологічного стану повітря проводять на підставі динамічних досліджень концентрації мікроорганізмів.

За результатами контролю обсіменіння повітря у виробничих приміщеннях та організованих викидах визначають додержання гігієнічних нормативів, ГДК мікробних клітин у повітрі робочої зони, кількісну характеристику ефективності роботи обладнання, що затримує та інактивує мікрофлору.

Основними санітарно-гігієнічними характеристиками повітря на біотехнологічних виробництвах є концентрації виробничого штаму, сторонньої мікрофлори і видовий склад останньої. Особливо важливе значення має контроль за сторонньою мікрофлорою для технологій, що ґрунтуються на незахищених процесах ферментації, при використанні сировинних джерел, які добре засвоюються багатьма мікроорганізмами.

Джерелом забруднення повітря робочої зони мікроорганізмами є технологічне обладнання. Так, під час виробництва мікробіологічних засобів захисту рослин, зокрема боверину, діючим початком якого є гриб *Beauveria bassiana*, також спостерігалось значне забруднення повітря робочої зони виробничим штамом. Уже до початку роботи повітря було дуже забруднене спорами різних грибів – у 1 м³ повітря виявлено до 10⁴ спор *Beauveria bassiana*, до 10³ спор *Penicillium* і до 10² спор *Aspergillus niger*. Упродовж робочого дня концентрація спор гриба *Beauveria bassiana* в повітрі виробничих приміщень збільшувалася в 5–7 разів.

Під час виробництва кормового препарату бацитрацину відзначено, що загальна забрудненість повітря виробничих приміщень у середньому на заводі становила 10^3 мікробних тіл у 1 м^3 повітря. Кількість стафілококів становила 15–16 мікробних тіл, цвілеві гриби були виявлені в кількості 80–85 мікробних тіл, виробничий штам – 10^3 мікробних тіл. Максимальне мікробне забруднення (в основному виробничим штамом) відзначалося у відділенні ферментації і фасування – до 10^4 мікробних тіл.

Метод визначення мікроорганізмів у повітрі робочої зони ґрунтується на підрахунку колоній, які вирости на агаризованому живильному середовищі при осадженні мікроорганізмів із повітря спеціальними приладами, що уловлюють мікробні аерозолі (наприклад, щілинний апарат Кротова, імпактори та ін.).

Відбір проб повітря для бактеріологічного аналізу здійснюють методом інерційного осадження, що забезпечує аспірацію повітря до 20–40 л/хв і час відбору проби – до 30 хв. Уловлювальна ефективність апарата становить 50 % для частинок із діаметром 3,6 мкм, до 95 % – для частинок із великим діаметром.

Прилад устанавлюють у точці контролю на рівній горизонтальній поверхні в зоні дихання на висоті 1,5 м. Крім повітряного середовища, в кожній контрольній точці проводять санітарно-мікробіологічні дослідження поверхонь технологічного обладнання, стін приміщень, спецодягу працівників.

Паралельно проводять відбір проб пилу з повітря для визначення вмісту в ній білка.

ВИСНОВКИ

1. Специфічне застосування біотехнологічних методів для вирішення проблем довкілля, таких як перероблення відходів, очищення води, запобігання забрудненням, становить предмет екологічної біотехнології. Коло завдань, що вирішуються екобіотехнологією, надзвичайно широке – від розроблення та вдосконалення методології комплексного хіміко-біологічного дослідження екосистем поблизу джерел техногенних дій до розроблення технологій і рекомендацій із рекультивації ґрунту, біологічного очищення води й повітря та біосинтезу препаратів, що компенсують шкідливий вплив зміни довкілля на людей і тварин. У рамках цього наукового напрямку розробляють технології рекультивації ґрунту, біологічного очищення води й повітря та біосинтезу препаратів, що компенсують шкідливий вплив зміненого довкілля на людей і тварин.

2. Екологічні біотехнології є маловідхідними технологіями з екологічно безпечною технічною реалізацією процесу. Вони спрямовані на очищення довкілля від різного роду забруднювальних речовин і виробництва екологічно чистої продукції з можливістю рециклінгу вторинних ресурсних потоків. Тому вибір біологічного агента тут має концептуальні основи, пов'язані з необхідністю глибоких знань у сфері фізіології та біохімічних процесів зростання і метаболізму біологічних об'єктів та обов'язковості їх санітарно-гігієнічного оцінювання.

3. Субстрати та середовища, використовувані в екологічній біотехнології, дуже різні, їх спектр безперервно розширюється. Із

розвитком промислових процесів відбувається накопичення нових видів відходів, що можуть бути знешкодженими та конвертованими в корисні продукти методами біотехнології. З одного боку, біотехнологічні промислові напрямки, що розвиваються бурхливими темпами, стикаються з проблемою вичерпання традиційних видів сировини, тому виникає необхідність у розширенні сировинної бази, з іншого – збільшення обсягів відходів, що накопичуються, робить необхідним розроблення нетрадиційних, зокрема біотехнологічних способів їх перероблення.

4. Розглянуто стадії біотехнологічних процесів та їх апаратне оформлення. Відзначено, що підтримання та підготовка чистої культури є дуже важливими моментами передферментаційної стадії, оскільки продуцент, його фізіолого-біохімічні характеристики та властивості визначають ефективність усього біотехнологічного процесу.

5. Найбільш складна і специфічна апаратура для ферментаційної стадії. Технічно найбільш складними процесами ферментації є аеробний глибинний стерильний і безперервний (чи з підживленням субстратом). Апарати для поверхневої та анаеробної ферментації менш складні й енергоємні. Численність методів культивування, надзвичайна різноманітність використовуваних біологічних агентів привели до величезної різноманітності конструктивних рішень, що залежать від низки чинників: типу продуцента й середовища, технології, масштабів виробництва, а також цільового продукту та ін. Розглянуто інженерні розрахунки основних біотехнологічних показників.

6. Асортимент продуктів, одержуваних в екологічних біотехнологічних процесах, надзвичайно широкий. За різноманітністю та обсягами виробництва перше місце займають продукти, одержувані в процесах, що базуються на життєдіяльності мікроорганізмів. Визначено основні групи продуктів екологічних біотехнологій. Розглянуто критерії оцінки ефективності біотехнологічних виробництв.

7. Найважливішим напрямом екологічної безпеки є мікробіологічна безпека. У цьому напрямі важливим є розроблення спеціального інженерно-технічного забезпечення біотехнологічних виробництв і можливість утилізації їх відходів. Відходи біотехнологічних виробництв належать, як правило, до типу, що розкладаються в природних умовах під дією різних факторів (біологічних – мінералізація за участі мікроорганізмів; хімічних – окислення, фізико-хімічних завдяки комплексному впливу, наприклад, променевої енергії та хімічних речовин).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Елинов Н. П. Основы биотехнологии / Н. П. Елинов. – Санкт-Петербург : Издательская фирма «Наука», 1995. – 600 с.
2. Биотехнология : в 8 кн. Кн. 4. Автоматизация биотехнологических процессов / Д. В. Зубин, В. М. Кантере ; под ред. Н. С. Егорова, В. Д. Самуилова. – Москва : Высшая школа, 1987. – 112 с.
3. Ефимова М. В. Введение в прикладную биотехнологию / М. В. Ефимова, А. П. Зенина. – Петропавловск-Камчатский : КГТУ, 2003. – 10 с.
4. Калюжный С. В. Биотехнология защиты окружающей среды: единство биокаталитических и инженерных подходов / С. В. Калюжный // Известия академии наук. Серия химическая. – 2001. – № 10. – С. 1735–1742.
5. Арзамасцев А. А. Математическое и компьютерное моделирование / А. А. Арзамасцев ; Федеральное агентство по образованию, ГОУВПО «Тамбовский государственный университет им. Г. Р. Державина». – Тамбов : Изд. дом ТГУ им. Г. Р. Державина, 2010. – 257 с.
6. Варфоломеев С. Д. Биотехнология. Кинетические основы микробиологических процессов : учеб. пособие для биол. и хим. спец. вузов / С. Д. Варфоломеев, С. В. Калюжный. – Москва : Высш. шк., 1990. – 296 с.
7. Воробьева Л. И. Промышленная микробиология / Л. И. Воробьева. – Москва : МГУ, 1989.

8. Волова Т. Г. Биотехнология / Т. Г. Волова. – Новосибирск : Изд-во Сибирского отделения Российской академии наук, 1999. – 252 с.
9. Тимощенко Л. В. Основы микробиологии и биотехнологии : учебное пособие / Л. В. Тимощенко, М. В. Чубик. – Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2009. – 194 с.
10. Кузнецов А. Е. Научные основы экобиотехнологии : учебное пособие / А. Е. Кузнецов, Н. Б. Градова. – Москва : Изд-во «Мир», 2006. – 504 с.
11. Жмур Н. С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками / Н. С. Жмур. – Москва : АКВАРОС, 2003. – 512 с.
12. Сравнительная оценка эффективности микробиологических препаратов для интенсификации очистки сточных вод [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.bionick.ru/2180/2236>.
13. Стольберг Ф. В. Биоплато – эффективная малозатратная экотехнология очистки сточных вод / Ф. В. Стольберг, В. Н. Ладыженский, А. И. Спирин // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. – 2003. – №3. – С. 32–34.
14. Черниш Є. Ю. Проблематика створення ефективної біотехнологічної системи анаеробної переробки осадів промислових стоків : збірник наукових статей III Всеукраїнського з'їзду екологів за міжнародної участі (Екологія/Ecology – 2001) / Є. Ю. Черниш, Л. Д. Пляцук. – Вінниця : ВНТУ, 2011. – Т. 2. – С. 49–51.

15. Мировой рынок производства энзимов [Электронный ресурс]. – Режим доступа : http://www.nauka.kz/biol_med/razd4/mirov_rinok_proizvods_enzimov.php.
16. Егорова Т. А. Основы биотехнологии : учеб. пособие для высш. пед. учеб. заведений / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. – Москва : Издательский центр «Академия», 2003. – 208 с.
17. Петраш Е. П. Биологическая очистка сточных вод с использованием водной растительности [Электронный ресурс] / Е. П. Петраш // Водные ресурсы, проблемы их охраны и использования. Водоснабжение и водоотведения : материалы Международной научно-практической конференции. – Москва, 2008. – Ч. 1. – С. 380–384. – Режим доступа : http://msuee.ru/science/1/sb-08_1.html.
18. Санация, фиторемедиация, биоремедиация почв, водоемов, полигонов [Электронный ресурс]. – Режим доступа : http://www.nauka.kz/biol_med/razd4/sanacia_fitoremediacia.php.
19. Использование очистных сооружений биоплато для очистки городских сточных вод / Ф. В. Стольберг, В. Н. Ладыженский, Ю. И. Вергелес и др. // Коммунальное хозяйство города. Научно-технический сборник. – 2002. – № 36. – С. 182–185.
20. Блажевич О. В. Культивирование клеток : курс лекций / О. В. Блажевич. – Минск : БГУ, 2004. – 78 с.
21. Учебно-методические материалы по подготовке к лабораторным и семинарским занятиям по курсу биотехнологии. Микробиологический синтез /

- Д. А. Васильев, С. Н. Золотухин, Н. И. Молофеева и др. – Ульяновск, 2006. – 87 с.
22. Ферментация. Типы ферментеров и биореакторов [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://bio-rus.ru/articles/34.html>.
 23. Смирнов К. А. Особенности твердофазной ферментации / К. А. Смирнов, Ю. Д. Алашкевич, Н. С. Решетова // Химия растительного сырья. – 2009. – № 3. – С. 161–164.
 24. Егоров Н. С. Промышленная микробиология / Н. С. Егоров. – Москва : Высшая шк., 1989. – 688 с.
 25. Компьютерное моделирование биотехнологических процессов и систем : учеб. пособие / Д. С. Дворецкий, С. И. Дворецкий, Е. И. Муратова, А. А. Ермаков. – Тамбов : Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2005. – 80 с.
 26. Биотехнические системы: теория и проектирование : учебное пособие / В. М. Ахутин, А. П. Немирко, Н. Н. Першин и др. – Оренбург : ГОУ ОГУ, 2008. – 204 с.
 27. Шотин А. Б. Автоматизация научных исследований процесса биосинтеза : автореф. дис. ... канд. техн. наук / А. Б. Шотин. – Москва, 2010. – 18 с.
 28. Лубенцов В. Ф. Автоматизация периодических процессов ферментации производства антибиотиков медицинского назначения : автореф. дис. ... д-ра техн. наук / В. Ф. Лубенцов. – Новочеркасск, 2006. – 36 с.
 29. Боровская Т. Н. Моделирование и оптимизация систем производства биогаза [Электронный ресурс] / Т. Н. Боровская, П. В. Северилов // Наукові праці ВНТУ. – 2009. – № 2. – Режим

доступа : http://www.nbuu.gov.ua/e-journals/VNTU/2009-2/2009-2_ru.htm.

30. Заварзин Г. А. Лекции по природоведческой микробиологии / Г. А. Заварзин ; отв. ред. Н. Н. Колотилова ; Ин-т микробиологии. – Москва : Наука, 2003. – 348 с.
31. Волова Т. Г. Введение в биотехнологию. Версия 1.0 : электрон. учеб. пособие [Электронный ресурс] / Т. Г. Волова. – Электрон. дан. (2 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2008. – (Введение в биотехнологию : УМКД № 143-2007 / рук. творч. коллектива Т. Г. Волова). – 1 электрон. опт. диск (DVD).
32. Экология микроорганизмов : учеб. для студ. вузов / А. И. Нетрусов, Е. А. Бонч-Осмоловская, В. М. Горленко и др. ; под ред. А. И. Нетрусова. – Москва : Изд-во «Академия», 2004. – 272 с.
33. Стейнер Э. Мир микробов / Э. Стейнер. – Москва : Изд-во «Мир», 1979. – Т. 2. – С. 6–25.
34. Шлегель Г. Общая микробиология / Г. Шлегель. – Москва : Мир, 1987. – С. 321–322.
35. Фурсова П. В. Вариационная модель развития поликультур микроорганизмов без пополнения запаса взаимонезаменимых ресурсов : дис. ... канд. физ.-мат. наук : 03.00.02, 03.00.16 / П. В. Фурсова. – Москва, 2004. – 284 с.
36. Заварзин Г. А. Бактерии и состав атмосферы / Г. А. Заварзин. – Москва : Наука, 1984. – С. 85–97.
37. Заварзин Г. А. Проблемы доантропогенной эволюции биосферы / Г. А. Заварзин. – Москва : Наука, 1993. – С. 212–222.

38. Хаммер М. Технология обработки природных и сточных вод / М. Хаммер. – Москва : Стройиздат, 1979. – С. 56–67.
39. Заварзин Г. А. Введение в природоведческую микробиологию : учебное пособие / Г. А. Заварзин, Н. Н. Колотилова. – Москва : Книжный дом «Университет», 2001. – 256 с.
40. Вавилин В. А. Автокатализ и флуктуации в природе [Электронный ресурс] / В. А. Вавилин // Природа. – 2005. – № 6. – С. 52–59. – Режим доступа : <http://www.ibmh.msk.su/vivovoco>.
41. Очистка сточных вод / М. Хенце, П. Армоэс, Й. Ля-Кур-Янсен, Э. Арван ; перевод Т. Мосолова. – Москва : Издательство «Мир», 2006. – 468 с.
42. Козловська Т. Ф. Рослинний покрив як тест-об'єкт оцінки ступеня екологічного ризику забруднення атмосферного повітря прикар'єрних територій / Т. Ф. Козловська, В. В. Никифоров // Вісник КрНУ імені Михайла Остроградського. – 2011. – Вип. 4 (69), ч. 1. – С. 151–154.
43. Biochemical Engineering. Інформація із сайту UtahState University. – Режим доступу: http://ocw.usu.edu/Biological_and_Irrigation_Engineering/Biochemical_Engineering/BIE_5810__thermodynamics.pdf-view.html.
44. Таширев А. Б. Комплексное исследование структуры и функций антарктических наземных микробных ценозов / А. Б. Таширев // Український антарктичний журнал. – 2009. – № 8. – С. 328–342.
45. Мироненко Л. М. Два подхода к математическому моделированию процессов в лабораторных микрэкосистемах:

- взгляд извне и изнутри [Электронный ресурс] / Л. М. Мироненко // Материалы Второй национальной конференции «Математическое моделирование в экологии». Серия «Математическая биология и биоинформатика». – 2012. – Т. 7, № 1. – Режим доступа : [http://www.matbio.org/2012/Mironenko2012\(7_182\).pdf](http://www.matbio.org/2012/Mironenko2012(7_182).pdf).
46. Knapp E. B. Carbon, nitrogen and microbial biomass Interrelationships during the decomposition of wheat straw: a mechanistic simulation model / E. B. Knapp, L. F. Elliott, G. S. Campbell // *Soil Biology & Biochemistry*. – 1983. – Vol. 15, № 4. – P. 455–461.
47. Wensem J. Van. Carbon and nitrogen fluxes in decomposing leaf litter with microbial-detritivore interactions: model simulations compared to microcosm ecotoxicity tests / J. Van Wensem, N. M. Van Straalen, Sebastian A. L. M. Kooijman // *Ecological modeling*. – 1997. – 1 March. – Vol. 96, Issues 1–3. – P. 175–189.
48. Грабович М. Ю. Участие прокариот в круговороте серы / М. Ю. Грабович // *Соросовский образовательный журнал*. – 1999. – № 12. – С. 16–20.
49. Ковалев В. В. Теоретические и практические аспекты совершенствования процессов биогазовой технологии / В. В. Ковалев, Д. В. Унгурияну, О. В. Ковалева // *Problemelel Energeticii Regionale*. – 2012. – № 1 (18). – С. 102–114.
50. Пляцук Л. Д. Анализ производительности биореактора в процессе биосульфидной обработки осадков сточных вод / Л. Д. Пляцук,

- Е. Ю. Черныш // Наука и образование Южного Казахстана. – 2012. – № 3/4 (94/95). – С. 198–204.
51. Черныш Е. Ю. Розробка технологічної схеми біосульфідної обробки осадів стічних вод / Е. М. Черныш // Матеріали XVI Міжнародної науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Екологія. Людина. Суспільство», м. Київ, 17–19 травня 2013 р. – Київ : НТУУ «КПІ», 2013. – С. 101–103.
52. Градова Н. Б. Биологическая безопасность биотехнологических производств : учебное пособие / Н. Б. Градова, Е. С. Бабусенко, В. И. Панфилов. – Москва : Дели Принт, 2010. – 136 с.
53. Tao H. Presentation on mechanism and applications of chalcopyrite and pyrite bioleaching in biohydrometallurgy – a presentation / Tao H., Dongwei L. // Bio-technology Reports. – 2014. – №4. – P.107–119.
54. The shift of microbial communities and their roles in sulfur and iron cycling in a copper ore bioleaching system / Niu J. et al. // Scientific Reports. – 2016. – №6. – P. 34–44.
55. Bioleaching phosphorus from fluorapatites with acidophilic bacteria / Priha O., Sarlin T., Blomberg P., Wendling L., Mäkinen J., Arnold M., Kinnunen P. // Hydrometallurgy. – 2014. – №150. – С. 269–275.
56. Васючков Ю. Ф. Біотехнологія гірських робіт: підручник / Ю. Ф. Васючков. – М.: Видавництво «Гірська книга», 2011. – 351с.
57. Кавчик Б. К. Бактериальное выщелачивание сульфидных руд и золотосодержащих концентратов в Австралии / Б. К. Кавчик //

Золотодобыча. – 2003. – №49. – Режим доступа:
<https://zolotodb.ru/articles/foreign/610>

58. Розвиток екологічно безпечних технологій конверсії фосфорвмісної сировини природнього і техногенного походження / Пляцук Л. Д., Черниш Є. Ю., Яхненко О. М., Аблєєва І. Ю., Макаренко Н. О., Чубур В. С. // Екологічні науки. – 2018. – №1 (20). – Т.1. – С. 135–139.

Навчальне видання

**Пляцук Леонід Дмитрович,
Черниш Єлізавета Юріївна**

**ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ:
принципи створення біотехнологічних виробництв**

Навчальний посібник

Художнє оформлення обкладинки Є. Ю. Черниш
Редактори: Н. З. Ключко, Н. М. Мажуга, М. Я. Сагун, С. М. Симоненко
Комп'ютерне верстання Є. В. Батальцева

Формат 60×84/16. Ум. друк. арк. 17,21. Обл.-вид. арк. 14,26. Тираж 300 пр. Зам. №

Видавець і виготовлювач
Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3062 від 17.12.2007