

ЭФФЕКТ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ СУБСТРАТОВ АНАЭРОБНЫХ БИОРЕАКТОРОВ В АППАРАТЕ ВИХРЕВОГО СЛОЯ

*Д. А. Ковалев¹, А. А. Ковалев^{1*}, И. В. Катраева², Ю. В. Литти³,
А. Н. Ножевникова³*

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ» (ФГБНУ ФНАЦ ВИМ), Москва, Россия,

*e-mail: kovalev_ana@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет» (ННГАСУ), г. Нижний Новгород, Россия

³Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), Москва, Россия

Поступила в редакцию 20.04.2019 г.

Аннотация – Представлены результаты исследования влияния обработки субстратов анаэробных биореакторов в аппарате вихревого слоя (АВС) на жизнеспособность микроорганизмов, обитающих в субстратах. Методом микроскопии установлено, что в обработанном в АВС в течение двух минут активном иле отсутствуют свободно плавающие жизнеспособные простейшие *Protozoa*. Подтвержден факт измельчения хлопьев активного ила, содержащегося в субстратах анаэробных биореакторов. Показано, что при длительной обработке в АВС (300 с) хлопья активного ила разрушаются более интенсивно, чем при менее продолжительной обработке (37,5 с). При этом сохраняется жизнеспособность микроорганизмов, в том числе метаногенов, за исключением простейших *Protozoa*, что имеет важное значение для их последующего использования для биологической конверсии биомассы с целью получения биогаза и высококачественных удобрений. Показано, что обработка в АВС способствовала улучшению массообмена микроорганизмов с питательной средой за счет тонкодисперсного измельчения (50-100 мкм) субстрата.

Ключевые слова: аппарат вихревого слоя, жидкие органические субстраты, микроорганизмы, анаэробные биореакторы, активный ил.

EFFECT OF DISINFECTION OF SUBSTRATES OF ANAEROBIC BIOREACTORS IN VORTEX LAYER APPARATUS

*D. A. Kovalev¹, A. A. Kovalev^{1*}, I. V. Katraeva², Yu. V. Litt³, and
A. N. Nozhevnikova³*

¹Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Scientific Agroengineering Center VIM”, Moscow, Russia, *e-mail: kovalev_ana@mail.ru

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Nizhny Novgorod State University of Architecture and Civil Engineering”, Nizhny Novgorod, Russia

³Federal State Institution “Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of Russian Academy of Sciences», Moscow, Russia

Received April 20, 2019

Abstract – Preliminary treatment of organic waste before its treatment in bioreactors promotes intensification of anaerobic bioconversion of organic waste which is classified as a renewable energy source. The results of studying influence of treating substrates of anaerobic bioreactors in vortex layer apparatus (VLA) on viability of microorganisms living in the substrates, are presented. Microscopy study shows no free-floating viable protozoa in the active sludge after VLA treatment for two minutes. The fact of grinding flakes of activated sludge from the substrates of anaerobic bioreactors is confirmed. It is found that a long-term VLA processing (300 s) leads to more intensive destroying flakes of the activated sludge as compared to a short-term treatment (37.5 s). At the same time, the viability of microorganisms, including methanogens, is maintained, with the exception of the protozoa, which is important for their subsequent use in biological conversion of biomass resulting in obtaining biogas and high-quality fertilizers. It has been shown that the VLA treatment contributed to the improvement of the mass exchange between microorganisms and a nutrient medium due to the fine grinding of the substrate (up to 50-100 μm).

Keywords: vortex layer apparatus, liquid organic substrates, microorganisms, anaerobic bioreactors, activated sludge.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы внимание общества все больше привлекается к решению двух неразрывно связанных проблем – предотвращению истощения природных ресурсов и охране окружающей среды от антропогенного загрязнения. Быстрое расходование запасов природного топлива, ограничение строительства гидро- и атомных электростанций усилили интерес к применению возобновляемых источников энергии, в том числе биомассы, то есть органических отходов, образующихся в сельском хозяйстве, пищевой и спиртовой промышленности, городских стоков. В этой связи весьма перспективно использование методов биологической конверсии органических отходов с получением биогаза и высококачественных органических удобрений при одновременном решении ряда вопросов охраны окружающей среды от загрязнения [1].

Практически любое органическое сырье, за исключением необработанных лигнина и восков, может быть подвергнуто метановому брожению [2-4].

Известно, что органические отходы перед их анаэробной обработкой в биореакторах подвергают предварительной обработке. В настоящее время существует множество вариантов предварительной обработки органических отходов перед анаэробным сбраживанием, различающихся по своей эффективности и энергопотреблению, среди которых выделяют кислотный, щелочной и термощелочной гидролиз, механическую и ультразвуковую предобработку и термогидролиз или их комбинации. В целом методы предварительной обработки осадков подразделяют на:

- термические, при которых осадок (избыточный ил) подвергается воздействию высоких температур (100–180°C);
- химические, при которых разрушение клеток микроорганизмов происходит под воздействием кислот или щелочей, а также окислителей, например озона или пероксидов;
- термохимические, сочетающие в себе два разрушающих фактора: воздействие высоких температур и щелочей;

- механические, из них наибольшее распространение получила обработка осадка ультразвуком, а также обработка в шаровых мельницах или насосах высокого давления, лизирующих центрифугах;
- биологические, в которых для лизиса клеточных стенок бактерий ила (в том числе и присутствующих в иле клеточных стенок патогенных микроорганизмов) используют препараты ферментов или микроорганизмов гидролитиков [5].

Однако в литературе сведения о применении аппаратов вихревого слоя для предварительной обработки субстратов отсутствуют.

Аппарат вихревого слоя (АВС) представляет собой устройство, использующее энергию вращающегося электромагнитного поля высокой удельной концентрации на единицу объема обрабатываемого вещества.

АВС – это труба диаметром 50–150 мм, изготовленная из нержавеющей стали и помещенная вместо ротора в статор асинхронного электродвигателя. В трубе на исходную смесь компонентов воздействуют электромагнитное поле, создаваемое обмотками статора, и интенсивнодвигающиеся ферромагнитные тела, движение которых хаотичное, причем направление движения они меняют с частотой, равной частоте тока. В результате в тех зонах трубы, где возникают электромагнитные поля, в буквальном смысле создается вихревой слой, из-за чего рассматриваемые аппараты и получили свое название. В этом слое реализуются все возможные виды воздействия на измельчаемый материал: удар, истирание, кавитация, даже происходит электролиз, если в системе есть вода [6].

В рабочей зоне АВС размещаются ферромагнитные частицы, которые под воздействием вращающегося электромагнитного поля вращаются вокруг своей наименьшей оси со скоростью, близкой к скорости вращения магнитного поля, одновременно перемещаются по рабочей зоне. Таким образом, каждая ферромагнитная частица является своеобразной мешалкой, которая приводит к быстрому перемешиванию и диспергированию компонентов.

Для изучения влияния обработки субстратов анаэробных биореакторов в аппарате вихревого слоя на интенсификацию процесса анаэробной биоконверсии органических отходов в лаборатории биоэнергетических и сверхкритических технологий ФГБНУ ФНАЦ ВИМ совместно с ФИЦ Биотехнологии РАН и ННГАСУ был проведен ряд экспериментальных исследований.

Целью работы было определение жизнеспособности микроорганизмов после обработки субстратов анаэробных биореакторов в аппарате вихревого слоя.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

1. Обработка активного ила в АВС

Исследования проводились в ННГАСУ с использованием активного ила из SBR-реактора, очищающего сточные воды пивоваренного завода.

Обработку активного ила проводили в аппарате вихревого слоя ферромагнитных частиц (изготовитель ООО «Регионметтранс», г. Нижний Новгород). Принципиальная схема установки представлена на рисунке 1.

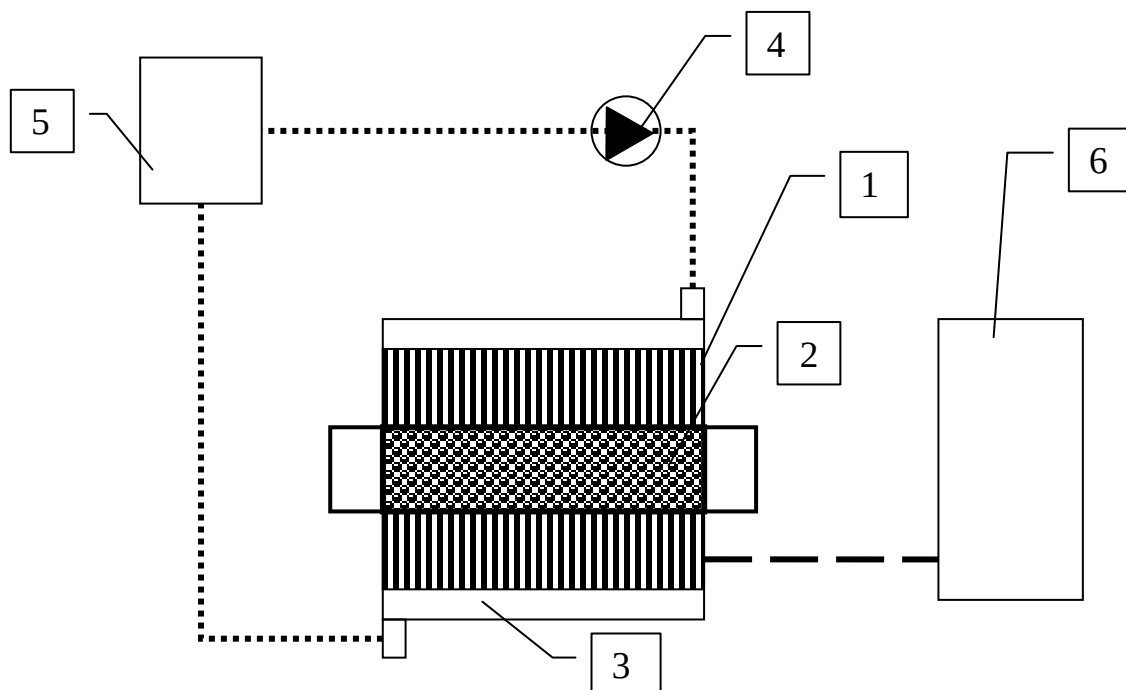


Рис. 1. Принципиальная схема установки с аппаратом вихревого слоя для обработки активного ила. 1 – индуктор; 2 – колба из немагнитной стали с ферромагнитными телами; 3 – рубашка охлаждения индуктора; 4 – насос циркуляции теплоносителя; 5 – бак теплоносителя (трансформаторное масло); 6 – частотный регулятор.

В рабочую колбу из немагнитной стали объемом 500 мл помещали ферромагнитные тела (стержни размером 1,6 x 15,8 мм, количество - 250 г) и 250 мл образца активного ила, затем герметично закрывали колбу завинчивающейся крышкой, вставляли ее в рабочую камеру АВС и осуществляли обработку образца в течение одной и двух минут при напряжении $U = 380$ В, силе тока $I = 5,2$ А, частоте $f = 65$ Гц. После окончания обработки отделяли ферромагнитные тела и проводили микроскопирование активного ила.

Микроскопирование активного ила проводили с использованием светового микроскопа Warszawa PZOSK 14 при увеличении в 160 раз.

Пробы на микроскопирование отбирались до обработки в АВС, после 1 мин и после 2 мин обработки в АВС непосредственно из рабочей колбы.

2. Обработка смеси активного ила и сырого осадка в АВС

Работа проводилась в лаборатории выживаемости микроорганизмов ФИЦ Биотехнологии РАН.

Объектами исследования в работе являлись образцы смеси активного ила и сырого осадка, отобранные на Люберецких очистных сооружениях: контрольный образец без обработки и обработанные в АВС в течение 37,5; 75; 150; 300 с.

Обработку смеси активного ила и сырого осадка проводили на установке, описанной в [7].

Аликвоты образцов после соответствующего разведения высевались на агаризованную питательную среду LA (Broth, Miller). Состав агаризованной питательной среды приведен в таблице 1.

Таблица 1. Состав питательной среды для посева микроорганизмов из образцов, обработанных в АВС

Компонент	Содержание, г/л
Дрожжевой автолизат	10,0
Пептон	5,0
NaCl	5,0
Агар-агар	3,0

Примечание: pH среды составляет 7,0

Посевы инкубировали при температуре 28°C в течение 3 сут, после чего подсчитывали количество выросших колоний в соответствующих разведениях и рассчитывали титр микроорганизмов в исходном образце.

Рассевы производились в следующие моменты времени:

1. Через несколько часов (3-5) после обработки на приборе и доставки в лабораторию.
2. Через сутки хранения при 5°C.
3. Через сутки хранения при 24°C.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Исходный активный ил был взят из SBR-реактора, очищающего сточные воды пивоваренного завода. На рисунке 2 приведена микрофотография исходного активного ила.



Рис. 2. Исходный активный ил. Микрофотография, увеличение в 160 раз.

Как видно из рисунка 2, хлопья исходного активного ила хорошо сформированы. В пробе имеется ряд прикрепленных и свободно плавающих простейших *Protozoa*, а также крупные щетинковые черви *Polychaeta*.

На рисунке 3 приведены микрофотографии активного ила после одной минуты обработки в АВС.

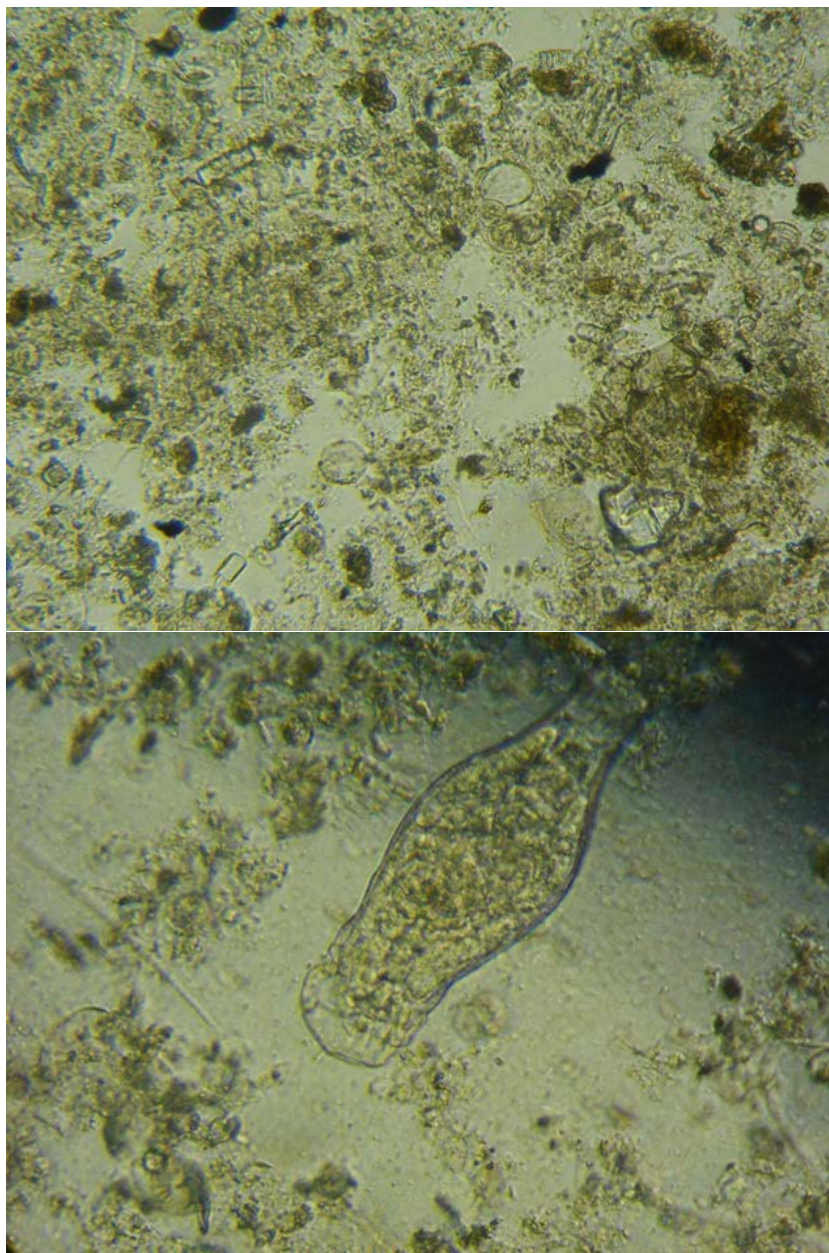


Рис. 3. Активный ил после обработки в АВС 1 мин. Микрофотография, увеличение в 160 раз.

Как видно из рисунка 3, после обработки в АВС в течение 1 мин активный ил измельчен, хлопья отсутствуют. Крупных живых простейших *Protozoa* не обнаружено (щетинковые черви *Polychaeta*, коловратки *Rotifera*). В нижней части рисунка 3 показана поврежденная мертвая коловратка *Rotifera* (с отрубленной верхней частью). Можно заметить живые более мелкие свободно плавающие простейшие *Protozoa*.

На рисунке 4 приведена микрофотография активного ила после обработки в АВС в течение двух минут.

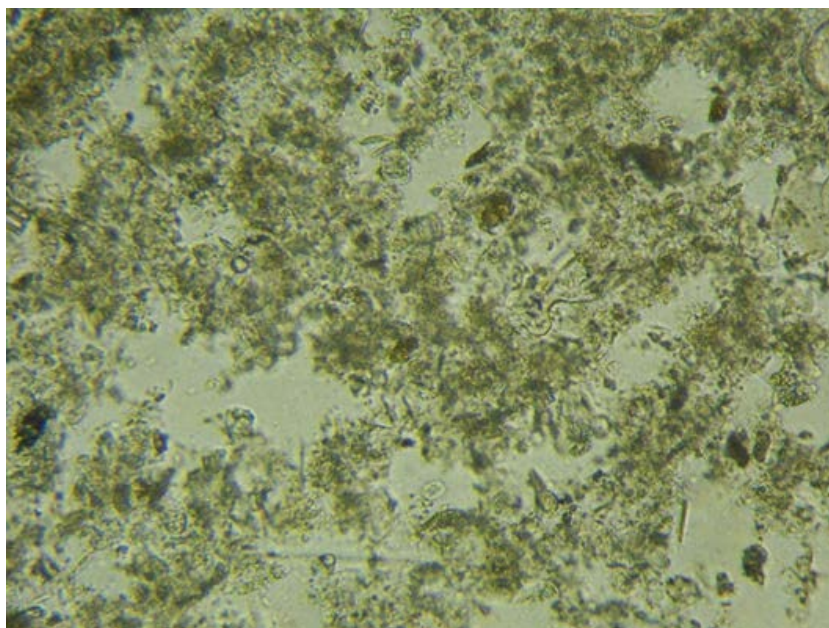


Рис. 4. Активный ил после обработки в АВС 2 мин. Микрофотография, увеличение в 160 раз.

Как видно из рисунка 4, после обработки в АВС в течение 2 мин активный ил измельчен, простейших *Protozoa*, в том числе мелких, не обнаружено.

Таким образом, после обработки активного ила в течение одной минуты в АВС крупные простейшие *Protozoa* отсутствовали, а при обработке в течение двух минут отсутствовали все мелкие, свободно плавающие простейшие *Protozoa*.

В таблицах 2 и 3 приведены результаты исследования влияния обработки смеси активного ила и сырого осадка, взятого с очистных сооружений, на жизнеспособность микроорганизмов, проведенного в лаборатории выживаемости микроорганизмов ФИЦ Биотехнологии РАН.

Таблица 2. Титр (КОЕ/мл) жизнеспособных микроорганизмов в обработанных в АВС образцах, хранящихся при 5°C.

Название образца	Время хранения образца, сут	
	0	1
Контроль	$1,3 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$
АВС 37,5	$2,2 \cdot 10^6$	$2,4 \cdot 10^6$
АВС 75	$2,7 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^6$
АВС 150	$3,3 \cdot 10^6$	$3,9 \cdot 10^6$
АВС 300	$4,8 \cdot 10^6$	$6,2 \cdot 10^6$

Как известно из [8], анаэробные микроорганизмы склонны к агрегированию – созданию флокул, хлопьев, гранул. Как видно из данных, представленных в таблицах 2 и 3, обработка в АВС приводила к разрушению хлопьев в субстрате при сохранении жизнеспособности микроорганизмов.

Таблица 3. Титр (КОЕ/мл) жизнеспособных микроорганизмов в обработанных в АВС образцах, хранящихся при 24°C.

Название образца	Время хранения образца, сут	
	0	1
Контроль	$1,3 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^7$
АВС 37,5	$2,2 \cdot 10^6$	$4,2 \cdot 10^7$
АВС 75	$2,7 \cdot 10^6$	$4,1 \cdot 10^7$
АВС 150	$3,3 \cdot 10^6$	$4,6 \cdot 10^7$
АВС 300	$4,8 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^7$

При этом улучшается массообмен микроорганизмов с питательной средой за счет тонкодисперсного измельчения субстрата (размер взвешенных частиц порядка 50–100 мкм). Также из данных, представленных в таблицах 2 и 3, видно, что развитие бактерий в питательной среде происходит быстрее при более высокой температуре. Согласно данным, полученным в [7], целесообразным представляется обработка субстрата в АВС не более 0,5 мин, так как при более длительной обработке характеристики процесса анаэробного сбраживания улучшались незначительно, что также подтверждается данными, представленными в таблице 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исходя из полученных экспериментальных результатов, можно сделать следующие выводы:

1. Обработка активного ила из SBR-реактора, очищающего сточные воды пивоваренного завода, в АВС в течение двух минут позволяет разрушить хлопья активного ила и клетки простейших *Protozoa*, которые, в случае последующей анаэробной обработки, будут являться питательной средой для консорциума анаэробных микроорганизмов.
2. Обработка смеси активного ила и сырого осадка очистных сооружений в АВС в течение 37,5–300 с позволяет разрушить хлопья активного ила, однако их обеззараживания не происходит.
3. Обработка субстратов анаэробных биореакторов в АВС не способна обеспечить обеззараживания субстратов без их последующей анаэробной обработки.
4. Обработка жидких органических субстратов в АВС позволит интенсифицировать процесс последующей анаэробной обработки за счет следующих факторов:
 - внесение в субстрат микрочастиц ферромагнетика;
 - разрушение клеток простейших *Protozoa* и образование из них питательной среды, на что не потребуется дополнительного времени удерживания в анаэробных биореакторах;
 - разрушение хлопьев активного ила без их обеззараживания, что приведет к улучшенному массообмену в анаэробных биореакторах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-25042мк.

ACKNOWLEDGEMENT

The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research in the framework of the research project No. 18-29-25042мк.

Список литературы:

1. *Ножневникова А.Н. и др.* Биотехнология и микробиология анаэробной переработки органических коммунальных отходов. М.: Университетская книга, 2016. 320 с.
2. *Хамидов М.Г., Стрельцов С.А., Данилович Д.А.* // Коммунальный комплекс России. 2009. № 2. С. 56.
3. *Цавкелова Е.А., Нетрусов А.И.* // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48. № 5. С. 469.
4. *Метелева Д.С., Шмакова О.А. и др.* // Всероссийская научная конференция Теоретическая и экспериментальная химия глазами молодежи. Иркутск: Изд-во ИГУ, 2013. С. 151.
5. *Кевбрина М.В., Газизова Н.Г., Коробцова В.Г.* // Водоочистка. 2013. № 1. С. 22.
6. <http://apparat-nn.ru/produktsiya/oborudovanie/chto-takoe-avs> (дата обращения: 01.04.2019).
7. *Litti Yu., Kovalev D., Kovalev A. et al.* // Journal of Physics: Conf. 2018. V. 1111, No. 1. P. 1. DOI: 10.1088/1742-6596/1111/1/012013.
8. Итоги науки и техники. Серия Биотехнология. Т. 29. М.: ВИНТИ, 1991.
9. *Лимаренко Н.В.* Обоснование параметров активатора обеззараживания стоков животноводческих предприятий. Ростов-на-Дону: ДГТУ, 2018. 160 с.

References:

1. *Nozhevnikova A.N. et al.* Biotechnology and microbiology of anaerobic digestion of organic municipal waste. M.: Univers. Kniga, 2016. 320 p. [in Russian].
2. *Khamidov M.G., Streltsov S.A., Danilovich D.A.* // Kommunalnyi kompleks Rossii [Municipal complex of Russia]. 2009. No. 2. P. 56. [in Russian].
3. *Tsavkelova E.A., Netrusov A.I.* // Appl. Biochem. Microbiol. 2012. V. 48. No. 5. P. 421. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0003683812050134>.
4. *Metleva D.S., Shmakova O.A. et al.* // Proceedings of All-Russian Scientific Conference Theoretical and Experimental Chemistry through the Eyes of Young People. Irkutsk: Izd. IGU, 2013. P. 151 [in Russian].
5. *Kevbrina M.V., Gazizova N.G., Korobtsova V.G.* // Vodoochistka [Water treatment]. 2013. No. 1. P. 22 [in Russian].
6. <http://apparat-nn.ru/produktsiya/oborudovanie/chto-takoe-avs> (accessed: 01.04.2019).
7. *Litti Yu., Kovalev D., Kovalev A. et al.* // J. Phys.: Conf. Ser. 2018. V. 1111. No. 1. P. 1. DOI: 10.1088/1742-6596/1111/1/012013.
8. Results of science and technology. Biotechnology ser. V. 29. M.: VINITI, 1991 [in Russian].
9. *Limarenko N.V.* Substantiation of the parameters of disinfection activator of livestock enterprises. Rostov-on-Don: DGTU, 2018. 160 p. [in Russian].