

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



КЛЕМЕНТЬЕВ СВЯТОСЛАВ ВЛАДИМИРОВИЧ

**БИОДЕСТРУКЦИЯ КОМПОНЕНТОВ ВОДНОЙ ФАЗЫ
ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ БИОМАССЫ
ИЗБЫТОЧНОГО АКТИВНОГО ИЛА**

1.5.6. Биотехнология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук,
профессор Сироткин А.С.

Казань – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Анаэробное сбраживание избыточного активного ила	15
1.2 Компостирование избыточного активного ила	16
1.3 Термохимические способы утилизации активного ила	18
1.4 Гидротермальные способы конверсии биомассы и осадков сточных вод	20
1.5 Водная фаза процесса гидротермального оживления	23
1.5.1 Характеристика водной фазы и биогенных веществ в её составе	24
1.5.2 Качественный состав водной фазы.....	27
1.6 Технологии утилизации водной фазы процесса гидротермального оживления отходов.....	32
1.6.1 Методы предварительной очистки водной фазы.....	34
1.6.2 Биологическая конверсия компонентов водной фазы.....	37
1.6.3 Биоэлектрохимические системы	44
1.7 Утилизация водной фазы при совместном культивировании с активным илом.....	46
1.8 Сочетание методов утилизации водной фазы.....	49
1.9 Выводы по аналитическому обзору литературы	50
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	52
2.1 Объекты исследований	52
2.2 Получение водной фазы гидротермального оживления	53
2.3 Оценка интегральной токсичности водной фазы с использованием биотест-объектов	54
2.3.1 Оценка токсичности с использованием <i>Paramecium caudatum</i>	54
2.3.2 Оценка токсичности с использованием <i>Artemia salina</i>	55
2.4 Оценка физико-химических показателей сточных вод.....	56
2.5 Качественное определение компонентов водной фазы.....	56
2.5.1 ЯМР-спектроскопия	56

2.5.2 Газовая хроматография	57
2.6. Получение микроорганизмов-деструкторов	57
2.7 Изучение культуральных и физиолого-биохимических свойств изолятов	58
2.8 Молекулярно-генетическая идентификация микроорганизмов	59
2.9. Исследование кинетики, равновесия и термодинамики процесса адсорбции	59
2.10 Оценка способности бактерий к формированию биопленок на водной фазе	61
2.11 Определение кинетических параметров культивирования микроводорослей.....	61
2.12 Определение состава биомассы водорослей при культивировании на водной фазе.....	62
2.12.1 Определение концентрации белка.....	62
2.12.2 Определение содержания полисахаридов	63
2.12.3 Определение содержания липидов.....	63
2.13 Методы оценки активного ила	63
2.13.1 Микрокопирование образцов активного ила	64
2.13.2 Оценка состояния активного ила по индексам биоразнообразия	64
2.14 Статистическая обработка результатов.....	64
ГЛАВА 3. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ И КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ВОДНОЙ ФАЗЫ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД И ИЗБЫТОЧНОГО ИЛА	65
3.1 Физико-химические показатели водной фазы процесса гидротермального ожигения	65
3.2 Оценка интегральной токсичности водной фазы с использованием биотестирования.....	68
3.3 Качественный состав водной фазы процесса гидротермального ожигения избыточного ила и осадков первичных отстойников.....	74
3.4 Выводы по главе 3	77

ГЛАВА 4. АЭРОБНОЕ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ВОДНОЙ ФАЗЫ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ ИЗБЫТОЧНОГО АКТИВНОГО ИЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ	78
4.1 Оценка морфологических и физиолого-биохимических свойств, полученных изолятов	78
4.2 Периодическое культивирование изолятов на водной фазе гидротермального ожигения избыточной биомассы активного ила	81
4.3 Молекулярно-генетическая идентификация микроорганизмов-деструкторов.....	84
4.4 Оценка способности бактерий к формированию биопленки на водной фазе процесса гидротермального ожигения избыточного активного ила	86
4.5 Адсорбция компонентов водной фазы с использованием адсорбентов....	90
4.6 Биосорбционная очистка водной фазы процесса гидротермального ожигения избыточного активного ила	96
4.7 Выводы по главе 4	100
ГЛАВА 5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ ДООЧИСТКИ ВОДНОЙ ФАЗЫ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ ОТ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ.....	101
5.1 Периодическое культивирование микроводорослей на водной фазе процесса гидротермального ожигения избыточного активного ила	101
5.2 Оценка эффективности удаления загрязняющих веществ из водной фазы с использованием микроводорослей.....	104
5.3 Количественный состав биомассы микроводорослей после культивирования на водной фазе процесса гидротермального ожигения...	107
5.4 ДООчистка компонентов водной фазы с использованием микроводорослей.....	108
5.5 Выводы по главе 5	111
ГЛАВА 6. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОВМЕСТНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ ВОДНОЙ ФАЗЫ С КОММУНАЛЬНО-БЫТОВЫМИ СТОЧНЫМИ ВОДАМИ	113

6.1 Периодическое культивирование активного ила на водной фазе гидротермального оживления с коммунально-бытовыми сточными водами	115
6.2 Отъемно-доливное культивирование активного ила на водной фазе гидротермального оживления с коммунально-бытовыми сточными водами	122
6.3 Техническое предложение по модернизации процесса биологической очистки коммунально-бытовых сточных на примере БОС г. Иннополис	128
6.4 Выводы по главе 6	130
ГЛАВА 7. ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВНЕДРЕНИЯ ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ НА ОЧИСТНЫЕ СООРУЖЕНИЯ	132
7.1 Расчет капитальных затрат на реализацию проекта	132
7.2 Расчет численности персонала и фонда заработной платы	133
7.3 Расчет годового расхода на электроэнергию	135
7.4 Расчет прибыли и периода окупаемости технологии гидротермального оживления избыточного активного ила	136
7.5 Расчет предотвращенного экологического ущерба окружающей природной среде от сброса водной фазы	140
7.6 Выводы по главе 7	143
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	144
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	146
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	147
ПРИЛОЖЕНИЕ А	174
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	177

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время в Российской Федерации более 90 % осадков сточных вод складировается на полигонах захоронения, тем самым приводя к отчуждению территории, и негативному воздействию на окружающую среду (за счет дополнительных выбросов парниковых газов в результате деятельности микроорганизмов) [1]. Помимо складирования органических отходов одной из важных проблем современности является сокращение выбросов CO₂ от использования ископаемого топлива и снижение доли ископаемых углеводородов в структуре энергетического потребления. Одним из направлений снижения климатической и экологической нагрузки является использование органических отходов для прямого получения биотоплива.

Среди методов утилизации осадков сточных вод и избыточного активного ила научный и практический интерес имеет технология гидротермального оживления. Исследования по гидротермальному оживлению осадков сточных вод и биомассы избыточного ила становятся все более актуальными в последние 10 лет, о чем свидетельствует рост публикационной активности по изучаемому направлению [2]. Широкое внедрение метода гидротермального оживления сдерживается рядом факторов, один из которых – образование значительного количества водной фазы (до 90 % от массы входящего потока) [3]. Состав сточных вод (водной фазы), согласно опубликованным данным [3,4], существенно отличается в зависимости от условий процесса и состава осадков. Кроме того, в водной фазе могут присутствовать токсичные соединения, которые необходимо предварительно обезвреживать для обеспечения эффективности дальнейшей биологической очистки. С учетом существующей проблемы разработка технологических основ процесса гидротермального оживления с оценкой возможности совместной биологической очистки сточных вод от процессов

гидротермального ожигения и коммунальных стоков является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время значительный интерес представляют исследования, направленные на возможность утилизации компонентов водной фазы, полученной в ходе процесса гидротермального ожигения различных органических отходов. Значительный вклад в изучении способов обезвреживания водной фазы внесли российские и зарубежные ученые – Чернова Н.И., Власкин М.С., Куликова Ю.В., Watson J., Wang T., Chen H., Zhang X., Kumar V., Mahima J., Trably E. Basar I.A., Liu H., Eskicioglu C., Macedo W. V., и другие.

Тем не менее, результаты исследований вышеупомянутых авторов, в основном, направлены на культивирование различных биологических объектов, потребляющих в качестве основного субстрата компоненты водной фазы. В результате анализа предметной литературы было выявлено, что возможность использования совместного обезвреживания водной фазы с коммунально-бытовыми сточными водами недостаточно изучена. В связи с этим необходимыми являются целенаправленные исследования по культивированию микроорганизмов активного ила на водной фазе процесса гидротермального ожигения с использованием различных способов её подготовки к биообезвреживанию.

Цель работы – разработка способов биодеструкции компонентов водной фазы, получаемой при гидротермальном ожигении биомассы избыточного активного ила в технологии биологической очистки сточных вод.

Задачи исследования:

1. Проанализировать качественный и количественный состав водной фазы, полученной в процессе гидротермального ожигения избыточного ила и осадков первичных отстойников.

2. Получить изоляты микроорганизмов-деструкторов из сообщества активного ила очистных сооружений и изучить их культурально-

морфологические, физиолого-биохимические свойства и способность к биодеструкции компонентов водной фазы.

3. Исследовать эффективность биодеструкции компонентов водной фазы с использованием микробных изолятов в биосорбционной системе с модифицированным цеолитом.

4. Изучить процесс биоокисления водной фазы с использованием микробных изолятов и культур микроводорослей с оценкой их потенциала для практического использования.

5. Оценить возможность совместной биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод с водной фазой гидротермального ожижения избыточного активного ила. Обосновать техническое предложение по внедрению технологии гидротермального ожижения на биологических очистных сооружениях г. Иннополис.

Научная новизна.

1. Показано, что в составе водной фазы гидротермального ожижения избыточного активного ила преобладают карбоновые кислоты ароматические соединения и гетероциклические азотосодержащие компоненты. Определена интегральная токсичность водной фазы. Средняя кратность разбавления водной фазы вызывающая гибель 50 % тест-объектов составила 59,55 и 83,26 для тест-объектов *Paramecium caudatum* и *Artemia salina* соответственно.

2. Из активного ила ПАО «Нижнекамскнефтехим» получены 11 микробных изолятов (S1-S11), способные осуществлять биодеструкцию компонентов водной фазы. Эффективность биодеструкции органических соединений для изолятов *Pseudomonas glycine* (S2), *Paenarthrobacter nicotinovorans* (S7), *Comamonas testesteroni* (S11) составляла 69 %, 73 % и 75 % соответственно.

3. Проведены оригинальные исследования по оценке способности изолированных микробных культур *Paenarthrobacter nicotinovorans* и *Comamonas testesteroni* формировать биопленки и обезвреживать компоненты водной фазы в биосорбционной системе в присутствии цеолита.

Эффективность деструкции по ХПК составила 81 %, ионам аммония – 41 % и фосфат-ионов – 99 %.

4. Впервые исследован процесс культивирования микробного сообщества активного ила на коммунально-бытовых сточных водах в смеси с водной фазой гидротермального оживления биомассы активного ила. Экспериментально показано, что период адаптации микроорганизмов активного ила к компонентам водной фазы составляет 6 суток при внесении водной фазы в концентрации 1,5 % (об.).

Теоретическая и практическая значимость. Результаты, полученные в настоящей работе, расширяют представления о составе и свойствах водной фазы, полученной в процессе гидротермального оживления биомассы избыточного активного ила, и способах ее биодеструкции с использованием различных микроорганизмов, в том числе специализированных бактериальных культур, сообщества активного ила и микроводорослей.

Разработаны технологические рекомендации по модернизации технологической схемы биологических очистных сооружений г. Иннополис путем совместной биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод с водной фазой, полученной в процессе гидротермального оживления осадков сточных вод. Было рассчитано, что при гидротермальном оживления осадков сточных вод очистных сооружений г. Иннополис образуется 17,4 м³ водной фазы, 0,47 т продуктов с добавленной стоимостью (биоуголь, бионефть) в сутки, при расходе сточных вод 1000 м³/сут.

Рассчитаны экономические показатели от интеграции реактора гидротермального оживления в технологическую схему БОС г. Иннополис. Период окупаемости установки составит 3,2 года, чистый дисконтированный доход за 10 лет составит 13 млн. рублей, за счет продажи продуктов с добавленной стоимостью (бионефть, биоуголь). Оценен предотвращенный экологический ущерб для водных объектов от утилизации активного ила и обезвреживания водной фазы в процессе её очистки, который составил более 1 140 тыс. руб./год.

Получен акт (№ 1511 от 19.11.2025) о намерении внедрения результатов диссертационной работы от АО «Зеленодольск-Водоканалсервис» по модернизации технологической схемы БОС г. Иннополис путем интеграции ректора ГТО с последующим биологическим обезвреживанием водной фазы с поступающими сточными водами.

Методология и методы исследования. В диссертации применены классические теоретические и эмпирические методы исследования процессов биоокисления сточных вод и их компонентов в качестве субстрата в процессе культивирования бактериальных изолятов, их сообществ и микроводорослей. В работе использована методология проведения технологических экспериментов в лабораторных условиях с комплексным аналитическим контролем процесса очистки водной фазы гидротермального ожижения избыточного активного ила с использованием физико-химических, микробиологических, молекулярно-генетических методов.

Использованы классические методы, применяемые в микробиологии (выделение микроорганизмов, культивирование, описание физиолого-биохимических свойств, полученных изолятов), генетике (молекулярно-генетическая идентификация гена 16S рРНК, с последующим анализом нуклеотидной последовательности с использованием базы данных NCBI). Кроме того, применены стандартные методы исследования физико-химических характеристик активного ила (доза, зольность, иловый индекс, площадь хлопьев). Для анализа качественного состава водной фазы использовали газовую хроматографию и ЯМР-спектроскопию.

Положения, выносимые на защиту:

В составе водной фазы процесса гидротермального ожижения избыточного активного ила идентифицированы ароматические соединения, карбоновые кислоты, азотсодержащие соединения.

Бактериальные изоляты активного ила, идентифицированные как *Pseudomonas glycinae*, *Paenarthrobacter nicotinovorans*, *Comamonas*

testosteroni, обеспечили обезвреживание водной фазы со степенью удаления загрязняющих веществ по ХПК до 75 %.

В биосорбционных системах очистки водной фазы в присутствии цеолита эффективность удаления органических веществ достигала 81 %, NH_4^+ 41 %, фосфатов 99 %.

Культуры микроводорослей *Parachlorella kessleri* – С9 и *Chlorella minutissima* – С123 показали стабильный рост ($\mu = 0,62 \text{ сут}^{-1}$ и $\mu = 0,92 \text{ сут}^{-1}$ соответственно) и эффективное изъятие биогенных элементов при разведении водной фазы в процессе её обезвреживания.

Смешение коммунально-бытовых сточных вод с водной фазой на БОС г. Иннополис позволяет обеспечить высокую эффективность очистки по ХПК до 95 %, стабильное протекание процесса нитрификации ($\text{KN} = 0,54$), а также удовлетворительные седиментационные свойства активного ила. Время адаптации активного ила к компонентам водной фазы составляло от 6-8 суток.

Модернизация технологической схемы БОС г. Иннополис за счет внедрения реактора гидротермального ожигения позволит предприятию утилизировать избыточный активный ил и обезвреживать водную фазу путем ее смешения с поступающими коммунально-бытовыми сточными водами.

Достоверность результатов исследования обеспечивается воспроизводимостью экспериментальных результатов, использованием комплекса стандартизированных методик, их аналитического контроля и анализа, а также использованием современных методов и оборудования для проведения экспериментальных работ.

Апробация работы.

Результаты диссертационного исследования были отмечены дипломами Всероссийского конкурса «Инженер года» в номинации «Биотехнология» (Москва, 2023), премией Мэра г. Казани (Казань, 2023), а также специальной государственной стипендией Республики Татарстан (Казань, 2025).

Основные положения и результаты диссертационной работы были представлены на XIII Международной конференции ученых-биологов

«Симбиоз-Россия 2022» (Пермь, 2022); Всероссийском форуме молодых исследователей «ХимБиоSeason 2023» (Калининград, 2023); XVIII Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые Технологии и Биотехнологии» (Казань, 2023; 2025); VIII Всероссийском молодежном научном форуме «Наука Будущего – Наука молодых» (Орел, 2023); X Международной конференции молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов и молекулярных биологов «ОренBio» (Новосибирск, 2023); конкурсе на соискание премии Мэра г. Казани (Казань, 2023); XXXVI Международной зимней молодежной научной школе «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2024); I Международной научно-практической конференции «Инновационные биотехнологии для охраны окружающей среды: от теории к практике» (Минск, 2024); VII Всероссийской научной конференции с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии и экологии, использование в мониторинге и биотехнологии» (Владивосток, 2024); XIV Молодежной конференции «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, 2024).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России, 3 статьи в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, 10 публикаций в сборниках Международных и Всероссийских научных конференциях.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Проведенное исследование соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология (технические науки), а именно пункту 7: «Разработка новых технологических процессов на основе микробиологического синтеза, биотрансформации, биокатализа, иммуносорбции, биодеструкции, биоокисления, и создания систем биокompостирования различных отходов, очистки техногенных отходов (сточных вод, газовых выбросов и др.), создание

замкнутых технологических систем микробиологического производства, последние с учетом вопросов по охране окружающей среды».

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа состоит из введения, 7 глав, заключения, списка литературы. Работа изложена на 177 страницах машинописного текста, включая 2 приложения, содержит 37 рисунков, 28 таблиц. Библиографический список включает 225 наименований цитируемых работ зарубежных и российских авторов.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в обсуждении цели и задач диссертационного исследования, поиске и анализе литературных данных, выполнении экспериментальных работ, обработке и обсуждении результатов исследований, формировании выводов совместно с научным руководителем, написании публикаций по теме диссертации и участие в конференциях и конкурсах.

Автор выражает благодарность заведующему кафедрой промышленной биотехнологии, д.т.н. Сироткину Александру Семеновичу за научное руководство, комплексной лаборатории ФГБОУ ВО КНИТУ «НаноАналитика» за проведение анализа качественного состава водной фазы; старшему научному сотруднику Высшей школы живых систем ФГАОУ ВО БФУ им. Канта к.т.н. Куликовой Юлии Владимировне за предоставление водной фазы гидротермального ожижения осадков сточных вод.

ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В процессе биологической очистки сточных вод микроорганизмы активного ила используют поллютанты в качестве субстрата, получая тем самым энергию для конструктивного, энергетического и пластического обмена [5]. С увеличением объема поступающих сточных вод в аэротенк растет и количество отходов, образующихся на станциях биологической очистки, а именно избыточного активного ила. Существует несколько способов утилизации биомассы избыточного активного ила: захоронение [6], термохимическая обработка [7], анаэробное сбраживание [8], компостирование [9].

Захоронение избыточного активного ила приводит к дополнительному отчуждению территорий, неприятному запаху (в результате процесса гниения) и попаданию в почву патогенных микроорганизмов и миграции тяжелых металлов [10].

Термохимические методы (сжигание, пиролиз, гидротермальная газификация, гидротермальное ожижение) предполагают обработку избыточного ила при высоких температурах 200-900 °С. В результате проведения процесса из отходов можно получить различные энергоресурсы (пирогаз, нефть, уголь) [7].

Анаэробное сбраживание предполагает собой разложение органических соединений под действием микроорганизмов в бескислородных условиях. В ходе процесса анаэробного сбраживания в результате биохимических реакций из биомассы избыточного активного ила получают биогаз и биоводород [8].

Компостирование – процесс биологического разложения избыточного ила в аэробных условиях посредством ферментативной активности микроорганизмов [9]. В результате применения процесса органическое вещество преобразуется в стабилизированные органические макромолекулярные гуминоподобные вещества, в то время как патогенные микроорганизмы погибают за счет повышенных температур [10].

1.1 Анаэробное сбраживание избыточного активного ила

Среди методов биологической утилизации избыточной биомассы активного ила анаэробное сбраживание является наиболее распространённым методом утилизации осадков сточных вод. В осадках сточных вод содержится большое количество легкодоступных органических соединений, которые с участием анаэробных микроорганизмов в составе сообщества последовательно трансформируются с образованием биогаза [11].

Процесс анаэробного сбраживания состоит из четырех последовательных стадий: гидролиз; ацидогенез; ацетогенез; метаногенез.

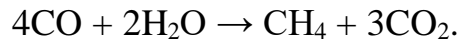
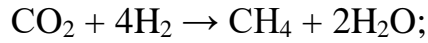
На этапе гидролиза сложные органические полимерные молекулы (полисахариды, белки, липиды) гидролизуются до мономерных соединений: олиго-, ди- и моносахаров; аминокислот; длинноцепочечных жирных кислот (C_5 - C_{12}). Гидролиз осуществляют бактерии вида: *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacteroides*, *Succinivibrio*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Fibrobacter*, *Firmicutes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* [12].

Впоследствии во время ацидогенеза побочные продукты первоначального гидролиза будут дополнительно расщепляться до летучих жирных кислот с более короткой цепью (C_1 - C_4), аммиака, углекислого газа и сероводорода. Важную роль в ацидогенезе играют бактерии родов *Peptococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Geobacter*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Phodopseudomonas*, *Desulfovibrio*, *Desulfo bacter*, *Sarcina* [12].

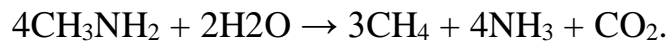
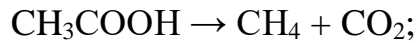
На третьем этапе органические кислоты с длинной цепью разлагаются, в основном, с образованием уксусной кислоты, H_2 и CO_2 . Ключевые бактерии, участвующие в ацетогенезе, относятся к родам *Syntrophobacter*, *Syntrophus*, *Pelotomaculum*, *Syntrophomonas*, и *Syntrophothermus* [13].

В зависимости от конвертируемого субстрата метаногенные бактерии подразделяются на две основные группы: хемолитотрофы и ацетотрофы [11,12, 14,15]. К хемолитотрофам относятся бактерии родов *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Methanospirillum* и др. Они способны потреблять

неорганический субстрат для синтеза биогаза по следующему механизму (восстановительного метаногенеза):



Бактерии родов *Methanosarcina*, *Methanosacta*, *Methanoplanus* используют для получения биогаза органический субстрат:



Таким образом, анаэробное сбраживание является традиционным методом обезвреживания осадков сточных вод с получением продуктов с добавленной стоимостью. Однако, у этой технологии есть существенные недостатки: высокая чувствительность анаэробных микроорганизмов к условиям сбраживания (температура, pH, наличие тяжелых металлов) [11]. В ходе проведения процесса можно восстановить в виде биогаза только 50-60 % углерода [16]. Кроме того, низкая скорость конверсии органического субстрата в метан и образование побочных взрывоопасных и токсичных газов (H_2 , H_2S) снижает эффективность и технологичность процесса. Помимо описанных недостатков, в недавнем обзоре было показано, что часть метана мигрирует в атмосферу, усиливая парниковый эффект [17].

1.2 Компостирование избыточного активного ила

Распространенным способом биологической утилизации избыточного ила является компостирование. В результате процесса компостирования из

биомассы или можно получить гуминовые кислоты, представляющие ценность для сельского хозяйства как органическое удобрение, улучшающее структуру почвы [9,10].

Процесс компостирования включает в себя 4 основных стадии (рисунок 1.1) [18,19]: мезофильная (температура процесса 20-40 °С); термофильная (температура процесса (50-80 °С); остывание компоста; созревание (гумификация).

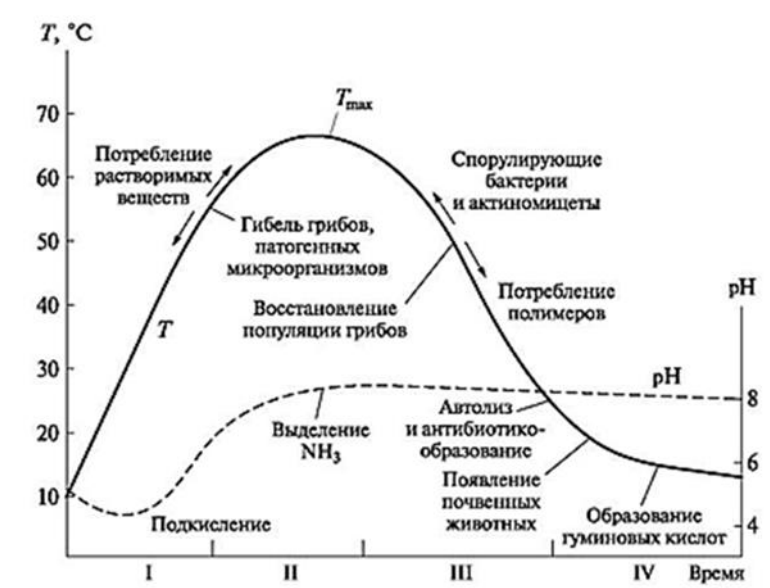


Рисунок 1.1 – Основные стадии процесса компостирования

На первой стадии в результате деятельности аэробных микроорганизмов происходит биодеструкция сложных органических макромолекул. Реакции разложения являются экзотермическими, вследствие чего температура компостируемой смеси повышается до 50-80 °С. Разогревание компоста обеспечивает его обеззараживание и уменьшение массы на 20-30 %. На этой стадии разлагаются устойчивые органические соединения [18].

По истечении времени компостирования скорость тепловыделения снижается, и температура начинает падать до значений окружающей среды.

Заключительная стадия является лимитирующей и может длиться месяцами. На этом этапе происходит реакция полимеризации остатков

лигнина с белками отмерших патогенных микроорганизмов с образованием гумуса. По прошествии нескольких месяцев готовый продукт представляет собой материал влажностью 40-50 %, готовый к внесению в почву [18,19].

В проведение процесса компостирования принимает участие множество видов бактерий (≈ 2000) и не менее 50 видов мицелиальных грибов [20]. Была проведена фенотипическая и генотипическая идентификация выделенных микроорганизмов, они были отнесены к различным физиологическим группам: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Ochrobacterium* sp., *Lactobacillus*, *Gluconobacter*, *Azotobacter*, *Achromobacter*, *Trichoderma*, *Candida*, *Aspergillus* [21].

Важным параметром компостирования является соотношение углерода и азота, дисперсность субстрата, необходимая для нормальной аэрации [22]. Сырой активный ил имеет низкое соотношение углерода к азоту и высокую влажность для повышения эффективности компостирования его необходимо смешивать с твердыми материалами, которые способны адсорбировать влагу и служат дополнительным источником углерода. Для этих целей, как правило, в осадки сточных вод вносят такие материалы как древесные опилки, торф, бытовые отходы, которые также выступают в качестве структурантов компоста и улучшают его физико-химические свойства [22,23].

Основными недостатками процесса компостирования является необходимость в больших земельных площадях, длительность процесса, возможное ингибирование роста микроорганизмов присутствием в биомассе активного ила тяжелых металлов и трудноокисляемых органических соединений [19-21].

1.3 Термохимические способы утилизации активного ила

Альтернативным процессом утилизации избыточного ила с рекуперацией энергии является пиролиз с разложением сухой биомассы (влажность $\phi < 70$ %) при высоких температурах (400-900 °С) без доступа кислорода [24]. В результате пиролиза биомасса избыточного ила

трансформируется в биоуголь, пирогаз и пиролизную жидкость [25]. Полученный уголь имеет хорошую пористость и может применяться в качестве адсорбента для удаления загрязняющих веществ, либо использоваться в качестве удобрения в сельском хозяйстве [26]. Пирогаз является топливом, которое состоит из смеси газов: метана; водорода; оксидов углерода (II, IV) [27]. Пиролизную жидкость разделяют на две отдельные фазы: бионефть и растворимую фракцию. Бионефть представляет собой сложную смесь органических соединений, в том числе сахара, карбоновые кислоты, спирты, альдегиды, ароматические соединения и может использоваться в качестве топлива в дизельных двигателях. Растворимая фракция содержит в себе большое количество растворимых органических соединений, химическое потребление кислорода (ХПК) варьирует в широком диапазоне от 30 до 500 г О/дм³ [28,29]. В некоторых случаях выход растворимой фракции может составлять от 70 до 99 % от общей массы (рисунок 1.2) [29].

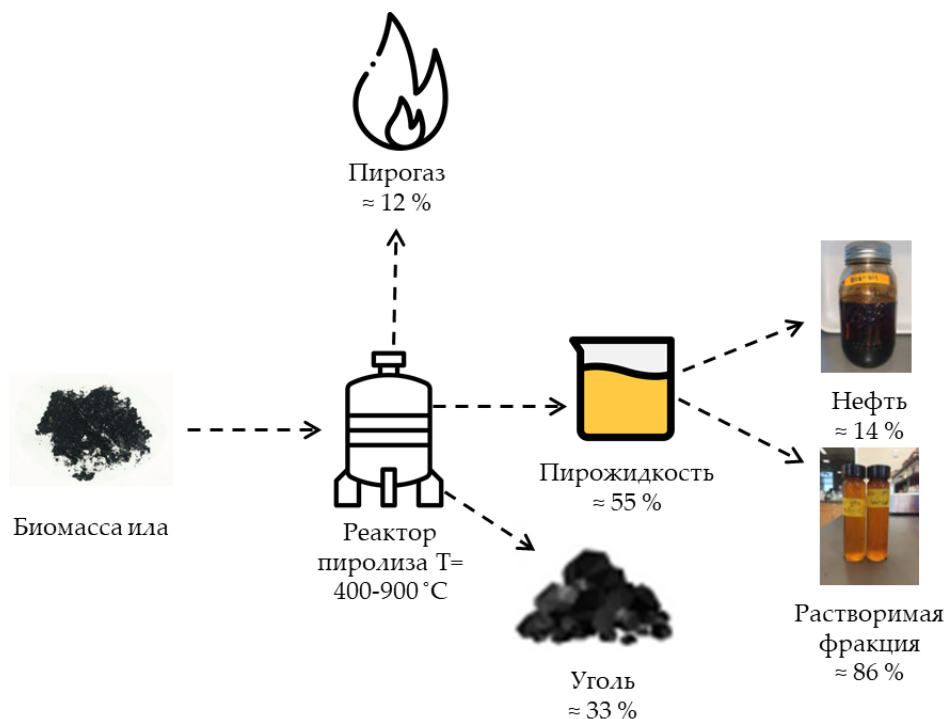


Рисунок 1.2 – Схема процесса пиролиза избыточного активного ила с балансом выхода продуктов

Пиролиз биомассы избыточного активного ила состоит из двух основных этапов. Первая стадия включает в себя термическое разложение (декарбонилирование, декарбоксилирование, дегидроксилирование) и деполимеризацию органических соединений с образованием летучих продуктов (CO , CO_2 , C_xH_y , смолы) и нелетучих (уголь). На втором этапе летучие соединения (в основном, смолы) разлагаются на низкомолекулярные соединения и вторичные смолы, часть смол восстанавливается и полимеризуется с образованием сажи. Параллельно длинноцепочечные углеводороды (C_{14} и выше) разрушаются на короткоцепочечные ($\text{C}_5\text{-C}_{14}$) [30].

Преимущества процесса пиролиза для утилизации осадков сточных вод состоят в следующем [11,24-26]: возможность восстановления органического углерода в энергоносители; снижение объема осадка; быстрое протекание процесса; полное уничтожение патогенных групп микроорганизмов.

Однако, процесс пиролиза имеет существенные недостатки [31]: является энергозатратным процессом, необходимость предварительного высушивания сырья; высокие инвестиционные затраты и сложность технологии; значительный объем выброса дымовых газов в атмосферу, в том числе, с вероятным присутствием в их составе диоксинов, фуранов.

1.4 Гидротермальные способы конверсии биомассы и осадков сточных вод

Ключевым преимуществом гидротермальной обработки биомассы (в том числе активного ила) является преобразование сырья в ценные продукты (бионефть, биогаз, биоуголь) при этом вода в составе биомассе выступает в качестве растворителя.

К методам гидротермальной обработки осадков сточных вод относятся: гидротермальная карбонизация (ГТК) [32]; гидротермальное ожижение (ГТО) [33]; гидротермальная газификация (ГТГ) [34]; гидротермальное окисление [35].

Их отличие между собой заключаются в условиях проведения реакции и целевых продуктах. При ГТК обработка производится в температурном диапазоне от 180 до 250 °С в течении нескольких часов. Основным получаемый продукт – гидроуголь. Процесс ГТО проводят при температуре 250–370 °С и давлении 4-20 МПа, целевым продуктом является аналог сырой нефти (бионефть). Для проведения процесса гидротермальной газификации необходима температура выше 400 °С, основным продуктом процесса является синтез-газ. Целью гидротермального окисления является минерализация органических соединений до CO_2 при избытке окислителя, добавляемого в сверхкритическую реакционную среду.

При гидротермальной карбонизации становится возможным извлечь 80 % углерода из избыточного ила, в форме гидроугля [36]. Из-за высокой зольности имеются трудности при его использовании в качестве топлива, для дальнейшего использования угля как готового продукта необходима дополнительная очистка [37]. В процессе гидротермальной газификации может восстановиться до 100 % углерода [38] в виде CH_4 , CO и CO_2 . Тем не менее, этот процесс требует создания сверхкритических условий и дорогостоящих катализаторов, что делает его экономически нецелесообразным для использования в промышленном масштабе.

Технология гидротермального ожижения для утилизации осадков сточных вод в последнее время привлекает интерес со стороны предприятий и может стать хорошим кандидатом для замены существующих методов утилизации осадков благодаря высокой эффективности рекуперации энергии [39].

Гидротермальное ожижение состоит в преобразовании влажных органических отходов в жидкое топливо при повышенной температуре (250-370 °С) и давлении (4-25 МПа) в течение 0,5-4 ч. В ходе процесса ГТО образуются нефтяная фракция (бионефть), газовая, твердая (биоуголь) и растворимая (водная) фазы.

Процесс получения аналога нефти-сырца сходен с естественным образованием нефти в земной коре [40]. В результате гидротермального

ожижения часть углерода концентрируется в нефтяной фазе, азот накапливается в водной фазе [40], а фосфор – в твердой (биоуголь) фазе [41]. Такой подход позволяет полностью восстанавливать биогенные элементы из осадков сточных вод без дополнительных потерь [42].

Первые упоминания о гидротермальном ожигении органических отходов были отмечены авторами в 1944 году [43], однако особое внимание технология стала привлекать в 1980 годах. Первым объектом для применения ГТО была лигноцеллюлозная биомасса [44].

Исследование процесса ГТО для утилизации осадков сточных вод было впервые выполнено в конце 1980 годов японскими учёными [45,46]. Обширный обзор литературы показал, что интерес к исследованиям процесса ГТО появился в конце 2000 гг. [47,48].

Преобладающими элементами в составе бионефти, образующейся в процессе ГТО, является углерод и водород, содержание которых составляет 68,2-73,75 % и 8,74-11,01 %, соответственно, в то время как содержание мешающих элементов – азота и серы в составе бионефти было на уровне 1,77-6,55 % и 0,29-1,15 %, соответственно [49]. В составе бионефти преобладают алифатические углеводороды и их производные. Содержание алифатических углеводородов составило 91,5 % и 78,6 % в бионефти, полученной из избыточного ила и первичного осадка сточных вод, соответственно, а из их смеси (1:1) – 75,13 %. На втором месте по содержанию в бионефти отмечается наличие углерода в виде ароматических соединений – от 4,1 до 13,7 %. Анализ основных веществ бионефти из осадков первичных отстойников методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией, показал, что в составе нефти преобладают жирные кислоты, общее содержание которых составляет 67,0 %. Значительная часть (до 23 %) веществ в составе бионефти из избыточного ила относится к категории азот- и кислородсодержащих соединений. Это связано с более высоким содержанием белка в составе биомассы ила [49,50].

Уголь, полученный в ходе ГТО, можно использовать как адсорбент, а также в качестве источника энергии при сжигании. Исследования показали,

что полученный уголь содержит большое количество золы, а площадь поверхности такого угля уступает пиролизному углю [51]. Однако, авторами было показано, что активация биоугля пероксидом водорода увеличивает его сорбционную емкость в 2,2 раза [52]. Таким образом, можно сделать вывод, что угольный остаток следует предварительно активировать с использованием химических методов для того, чтобы в дальнейшем использовать его как сорбционный материал [52].

Использование угольного остатка возможно в качестве источника энергии. Биоуголь обладает теплотой сгорания 15-18 МДж/кг, что превышает теплотворную способность сухой древесины и бурого угля влажностью 30-40 % [53].

Утилизация водной фракции является «узким местом» технологии гидротермального ожижения осадков сточных вод и существенной проблемой, которую необходимо решать с целью эффективного внедрения процесса ГТО в промышленности [42].

1.5 Водная фаза процесса гидротермального ожижения

Несмотря на преимущества ГТО, основным недостатком технологии, ограничивающим ее применение в промышленном масштабе, является образование большого количества водной фазы, фактически – сточных вод. Водная фаза образуется не только за счет высокой влажности исходного сырья, но и вследствие процесса дегидратации компонентов биомассы. По различным данным [40], выход водной фазы в процессе ГТО составляет от 3,8 % до 55 % и зависит от условий процесса и типа используемого сырья. В среднем выход водной фазы составляет 20-30 %; при этом наибольшее количество образующихся сточных вод характерно для лигноцеллюлозной биомассы [54,55].

На сегодняшний день большинство исследований в области ГТО посвящено способам повышения выхода и качества бионефти, в то время как проблема утилизации водной фазы ГТО, содержащей до 40 % углерода и до

80 % питательных веществ (биогенных элементов – калия, фосфора и азота) исходной биомассы, является малоизученной [56,57]. Наличие биогенных элементов в составе ограничивает возможность сброса сточных вод процесса ГТО в водоемы по причине не только потери ценных компонентов, но и усиления процессов эвтрофикации. При этом образующаяся водная фаза содержит токсичные компоненты в виде растворимых органических веществ, в том числе азотсодержащих гетероциклических соединений. По данным некоторых исследований [40,56] в составе сточных вод ГТО могут обнаруживаться тяжелые металлы, что наиболее характерно для процесса ГТО осадков сточных вод.

1.5.1 Характеристика водной фазы и биогенных веществ в её составе

Анализ литературных источников по составу жидкой фазы ГТО, полученных разными исследователями, показал, что свойства жидкой фазы существенно отличаются в зависимости от вида исходного сырья и технологических параметров самого процесса. На рисунке 1.3. представлены основные количественные характеристики водной фазы, полученной при гидротермальном оживлении различного вида сырья (биомассы водорослей, навоза, активного ила, лигнинсодержащей биомассы. Визуализацию распределения числовых данных осуществляли с использованием диаграммы «ящик с усами», в пакете прикладных программ Origin 2019.

Анализ данных исследований показал, что водная фаза ГТО в большинстве случаев характеризуется высокими значениями ХПК в некоторых случаях более 100 г О/дм³, и содержит большое количество органического углерода.

Водная фаза, полученная в процессе ГТО микроводорослей, отличается, в основном, слабощелочной реакцией среды (рН 7,5-8,5).

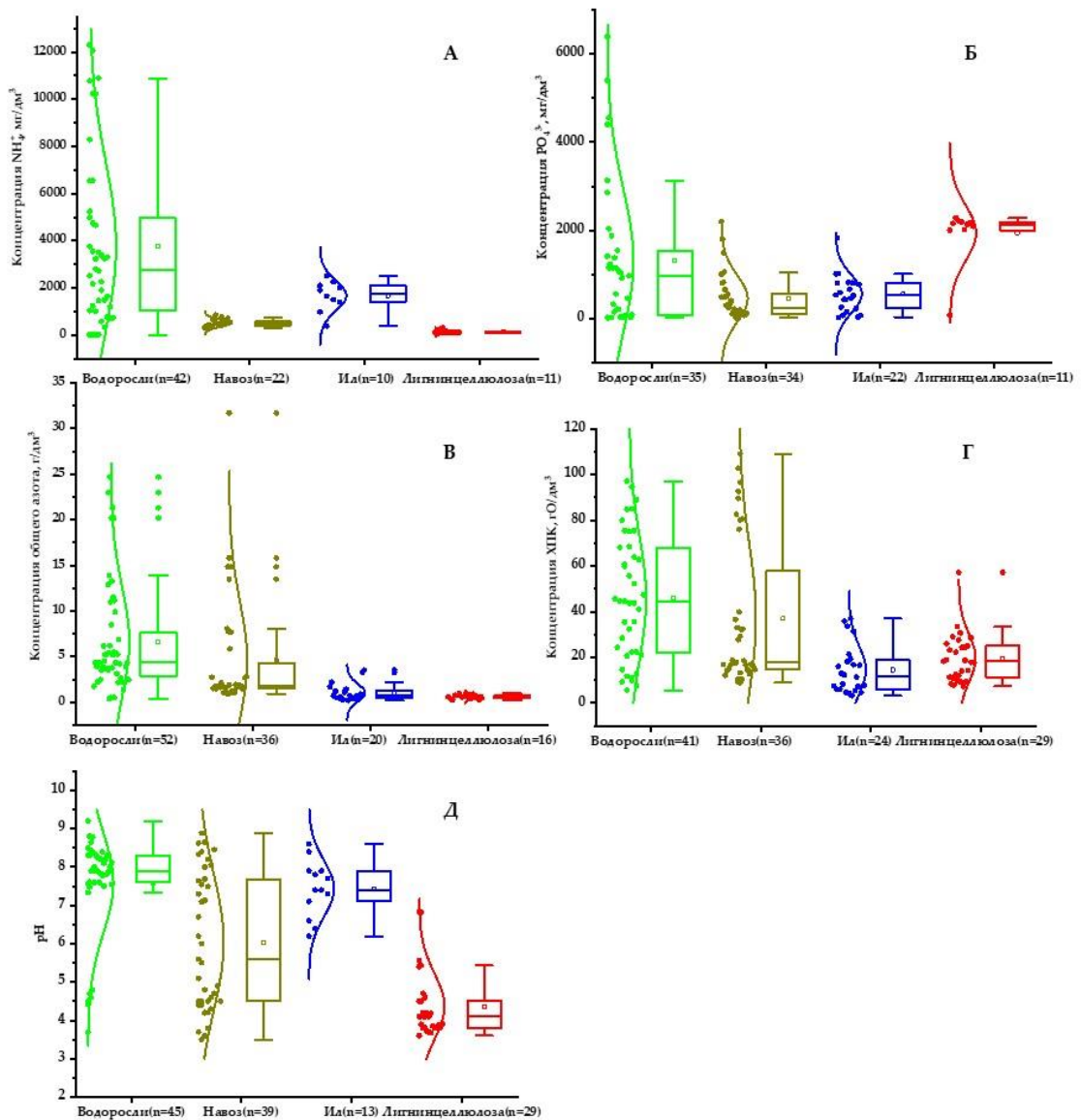


Рисунок 1.3 – Количественное содержание компонентов в водной фазе, полученной после оживления водорослей [58-67], навоза [68-74], ила [69,75-79], лигнинцеллюлозы [74, 77,80-86]. Температура ГТО варьировала от 200 до 400 °С, n – количество анализируемых точек

Вероятно, это связано с высоким содержанием белков в биомассе водорослей, которые в ходе реакций гидролиза и дезаминирования распадаются до растворимых в воде аминокислот и аммонийных соединений [87,88]. При этом низкие значения рН водной фазы было установлено авторами [51] для *Chlorella sp.*, биомасса которой содержит много липидов (в

среднем, около 60 %) и мало белка (9,3 %). В то же время рН водной фазы, полученной при ГТО *Nannochloropsis sp.*, содержащей много белка (52,4 %) и мало липидов (14,1 %), имела более высокие значения рН (7,55-8,78).

Водная фаза ГТО лигноцеллюлозной биомассы имеет кислую реакцию среды, что может быть связано с разложением лигнина и целлюлозы до органических кислот.

По данным авторов [89] более высокие температуры и время проведения процесса способствуют повышению рН получаемой водной фазы. В присутствии катализатора водная фаза отличалась более высокими значениями рН.

Водородный показатель водной фазы ГТО, полученной из навоза и активного ила, имеет более широкий диапазон (3-8,7 для навоза и от 6-8,5 для избыточного ила). Тем не менее, следует отметить, что диапазон средних значений рН водной фазы для навоза относится к нейтральной области, а для активного ила склоняется в сторону слабощелочной, что может быть связано с наличием большого количества азотосодержащих веществ в водной фазе по сравнению с другими отходами [90].

Содержание азота в водной фазе ГТО колеблется в пределах 0,3-25 г/дм³. Наибольшее содержание аммонийного азота характерно, в основном, для водной фазы, полученной из биомассы микроводорослей по причинам, указанным выше, в противоположность тому, что лигнин, липиды и углеводы лигноцеллюлозной биомассы вносят наименьший вклад в образование азота, поскольку эти фракции состоят в основном из С, Н и О [55].

Содержание азота в водной фазе увеличивается в случае проведения процесса ГТО в присутствии катализаторов, что обусловлено деструкцией белков до аминокислот и аммиака [88]. Показано [65], что содержание азота в водной фазе сильно зависит от исходного содержания белков в биомассе. Более 50 % общего содержания азота в водной фазе приходится на долю аммонийного азота (NH_4^+). По данным [40], наибольшее количество азота и

аммонийных соединений содержится в водной фазе водорослей и навоза, меньше азота содержит водная фаза ГТО лигноцеллюлозной биомассы.

Как видно из результатов на рисунке 1.3, концентрация фосфатов (PO_4^{3-}) в водной фазе заметно ниже по сравнению с содержанием азота, что, вероятно, связано с переносом фосфорорганических соединений, таких как фосфолипиды, в растворитель – дихлорметан при экстракции бионефти из жидкой фазы ГТО [87].

Отмечено [40], что ограниченное содержание фосфора в водной фазе ГТО частично связано с тем, что большая часть исходного фосфора в ходе гидротермальной конверсии, в основном, остается в твердом остатке. Это определяется наличием в биомассе металлов, таких как, Mg^{2+} , Al^{3+} и Ca^{2+} , которые могут влиять на межфазовую миграцию фосфорсодержащих производных, тем самым приводя к накоплению PO_4^{3-} в твердом остатке.

1.5.2 Качественный состав водной фазы

Водная фаза ГТО образуется при воздействии на биомассу воды в субкритическом состоянии, т.е. при температуре выше $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ до критической температуры $374\text{ }^{\circ}\text{C}$ и находящейся под давлением выше давления насыщенного пара при данной температуре, что позволяет воде оставаться в жидком состоянии и иметь границу раздела фаз с паром при условиях существования достаточного объема [91].

В субкритических условиях вода имеет низкую диэлектрическую проницаемость и, таким образом, она выполняет функции специфического растворителя с разрушением клеточных структур и гидролизом биополимеров до мономеров [91].

Состав исходного сырья для процесса ГТО довольно сложный, поэтому предсказать точный компонентный состав водной фазы не представляется возможным. Для определения состава водной фазы гидротермального

ожигения исходное сырье оценивают по соотношению трех основных составных биополимеров: липиды, белки и углеводы [92].

На рисунке 1.4 показаны основные пути превращения этих соединений в компоненты водной фазы.

Липиды вносят основной вклад в образование бионефти и разлагаются до глицерина и жирных кислот путем гидролиза. Глицерин разлагается и конденсируется с образованием водорастворимых веществ и углекислого газа. Некоторые жирные кислоты превращаются в длинноцепочечные алканы путем декарбоксилирования и гидрирования. В дальнейшем часть из них превращаются в спирты, а затем спирты этерифицируются жирными кислотами с образованием сложных эфиров. Другие жирные кислоты могут реагировать с аммиаком, образующимся в результате распада аминокислот с образованием амидов жирных кислот [93].

Белки вносят основной вклад в азотистые соединения в продуктах водной фазы. Они подвергаются гидролизу и образуют аминокислоты, которые затем трансформируются в карбоновые кислоты, аммиак, амиды и углекислый газ путем параллельного дезаминирования и реакции декарбоксилирования [94].

В результате гидролиза большинство полисахаридов, кроме целлюлозы, образуют глюкозу и фруктозу; при этом глюкоза также может изомеризоваться во фруктозу. Однако скорость изомеризации намного ниже, поэтому они, в основном, разлагаются до фенолов и фуранов путем раскрытия цикла и циклизации. Деградация продуктов фруктозы включают 5-гидроксиметилфурфурол, а глюкоза подвергается реакциям Майяра с аминокислотами в результате гидролиза белков для получения азотистых гетероциклических соединений (например, пиридина, пирозина, пиррола и индола) [93,95].

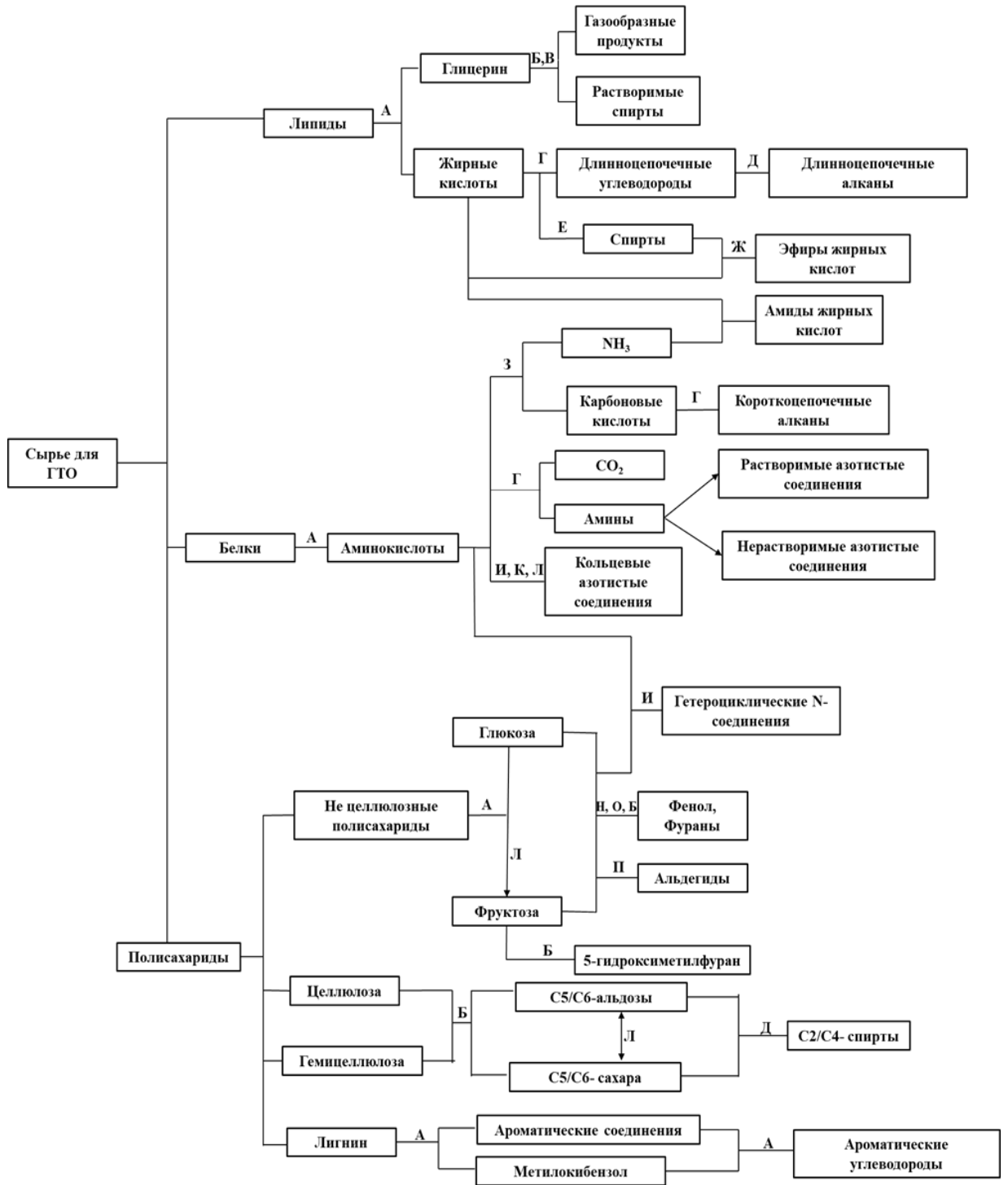


Рисунок 1.4 – Путь преобразования основных компонентов процесса ГТО: А – гидролиз; Б – деградация; В – конденсация; Г – декарбоксилирование; Д – гидрирование; Е – дезоксигенирование; Ж – этерификация; З – дезаминирование; И – полимеризация; К – дегидратация; Л – изомеризация; М – реакция Майяра; Н – циклизация; О – раскрытие кольца; П – расщепление С-С

Лигноцеллюлозное сырье включает целлюлозу, гемицеллюлозу и лигнин, и каждый компонент сопровождается оригинальными реакционными процессами ГТО. Так, целлюлоза и гемицеллюлозы первоначально разлагаются на глюкозу, пентозу и гексозу, которые далее разлагаются на альдегиды и кетоны [96]. Лигнины содержат различные типы связей, такие как β -O-4, α -O-4, 4-O-5 и β -5 [97], и разрыв этих связей приводит к образованию различных фенольных соединений и метилбензола. Затем некоторые из этих соединений в результате гидролиза образуют ароматические углеводороды и ароматические полимеры [98].

Таким образом, основными классами органических соединений в водной фазе являются карбоновые кислоты, спирты, гетероциклические азотсодержащие соединения, кетоны, альдегиды, фенолы и их производные, простые и сложные эфиры, амиды, пиразины и пиримидины.

Процентное соотношение различных групп органических веществ в водной фазе (от общей массы органических соединений) представлено на рисунке 1.5. Кроме органических кислот в водной фазе присутствуют азот- и кислородсодержащие гетероциклические соединения, спирты, фенолы, кетоны. На их долю приходится около 76 % общего количества веществ, экстрагированных в ходе исследования состава водной фазы [65].

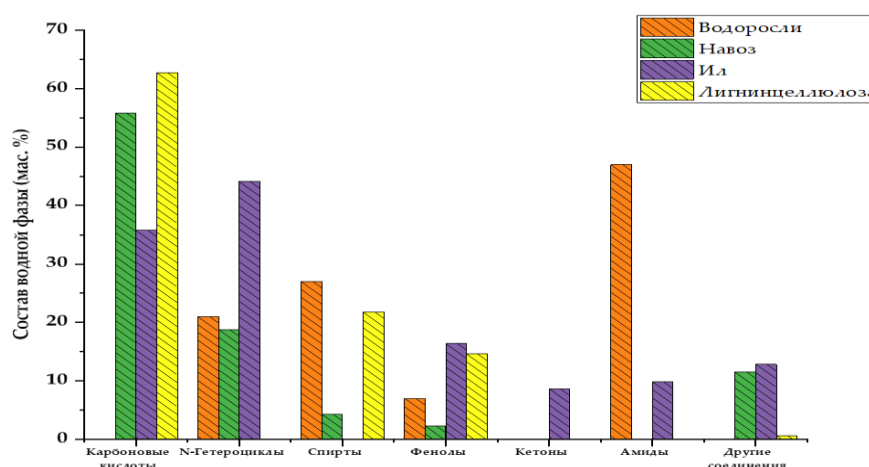


Рисунок 1.5 – Распределение органических веществ в водной фазе после гидротермального ожижения органического сырья [42,99,100-102]

Согласно рисунку 1.5 наиболее распространенным классом органических соединений в водной фазе являются карбоновые кислоты. Некоторыми исследователями [40] установлено, что биомасса с высоким содержанием белков и углеводов в процессе ГТО обуславливает образование сточных вод с большим содержанием органических веществ, и это связано с тем, что производные белков и углеводов, в основном, являются водорастворимыми. Таким образом, водная фаза преимущественно содержит большое количество органических кислот, производных циклических аминов и N/O гетероциклических соединений [103].

Сырье для процесса ГТО с высокой концентрацией белка и наличием неорганического азота, такое как избыточный активный ил, обуславливает содержание в водной фазе большого количества амидов. Наибольшее количество N-гетероциклических азотсодержащих веществ было обнаружено в водной фазе, полученной путем гидротермального ожижения избыточного активного ила (около 45 % от общего количества органических соединений) [101]. Причиной такой высокой концентрации N-гетероциклических азотсодержащих веществ в водной фазе является большое содержание азота в биомассе ила в результате протекания процессов нитрификации на биологических очистных сооружениях.

Показано [42], что при проведении процесса гидротермального ожижения при температурах 240-320 °C и времени реакции 30-60 минут в водной фазе было обнаружено высокое содержание кислородсодержащих гетероциклических соединений, таких как фурфуролы и их производные, фенолы, а также азотсодержащих соединений: фураминов, амидов жирных кислот и др. Эти соединения могут подвергаться повторной полимеризации при повышении температуры процесса и переходом в состав бионефти, увеличивая ее выход.

Кроме того, в водной фазе присутствует широкий спектр фенольных соединений, в основном, полученных в результате деградации лигнина в лигноцеллюлозной биомассе при высокой температуре. Наименьшая

концентрация фенола наблюдалась в водной фазе, полученной из микроводорослей и навоза, поскольку это сырье не содержит лигнина.

Таким образом, водная фаза, которая образуется в процессе гидротермального охижения различных органических отходов, характеризуется сложным компонентным составом и содержит как органические соединения различных классов (карбоновые кислоты, ароматические вещества и др.), так и неорганические составляющие (тяжелые металлы, NH_4^+ , PO_4^{3-}).

Из-за высокого содержания органических и неорганических соединений водную фазу нельзя сбрасывать в канализационную сеть и природные водоемы без предварительной очистки. В связи с этим актуальным направлением научных исследований является обезвреживание водной фазы процесса ГТО с целью повышения экономической эффективности гидротермального охижения.

1.6 Технологии утилизации водной фазы процесса гидротермального охижения отходов

Анализ научных исследований в области гидротермального охижения органических отходов показал [40,54-56,59,87,104-105], что процесс имеет ряд технологических и экологических преимуществ по сравнению с другими методами утилизации биомассы, однако на современном этапе не получил широкого распространения на практике, а для его коммерциализации имеются определенные препятствия, связанные, в частности, как было сказано выше, с необходимостью обезвреживания или использования водной фазы, образующейся в данном процессе.

Широко исследуются возможности использования водной фазы ГТО в качестве питательной среды для культивирования микроводорослей и микроорганизмов. Особую актуальность в этом направлении исследований

имеет поиск путей снижения влияния токсичных компонентов водной фазы ГТО на рост и развитие биомассы продуцентов целевых продуктов.

В ходе анализа научной литературы в области утилизации водной фазы ГТО установлено [40,54], что наиболее распространенным способом утилизации является ее рециркуляция с использованием реактора для ГТО. Однако такой способ приводит к накоплению органического углерода и токсичных веществ, что усложняет дальнейшую утилизацию водной фазы.

Научный интерес также представляют технологии использования энергетического потенциала водной фазы при реализации процесса анаэробного сбраживания. Практическая реализация данного направления часто рассматривается в совокупности с другими технологическими решениями, например, с адсорбцией (рисунок 1.6).

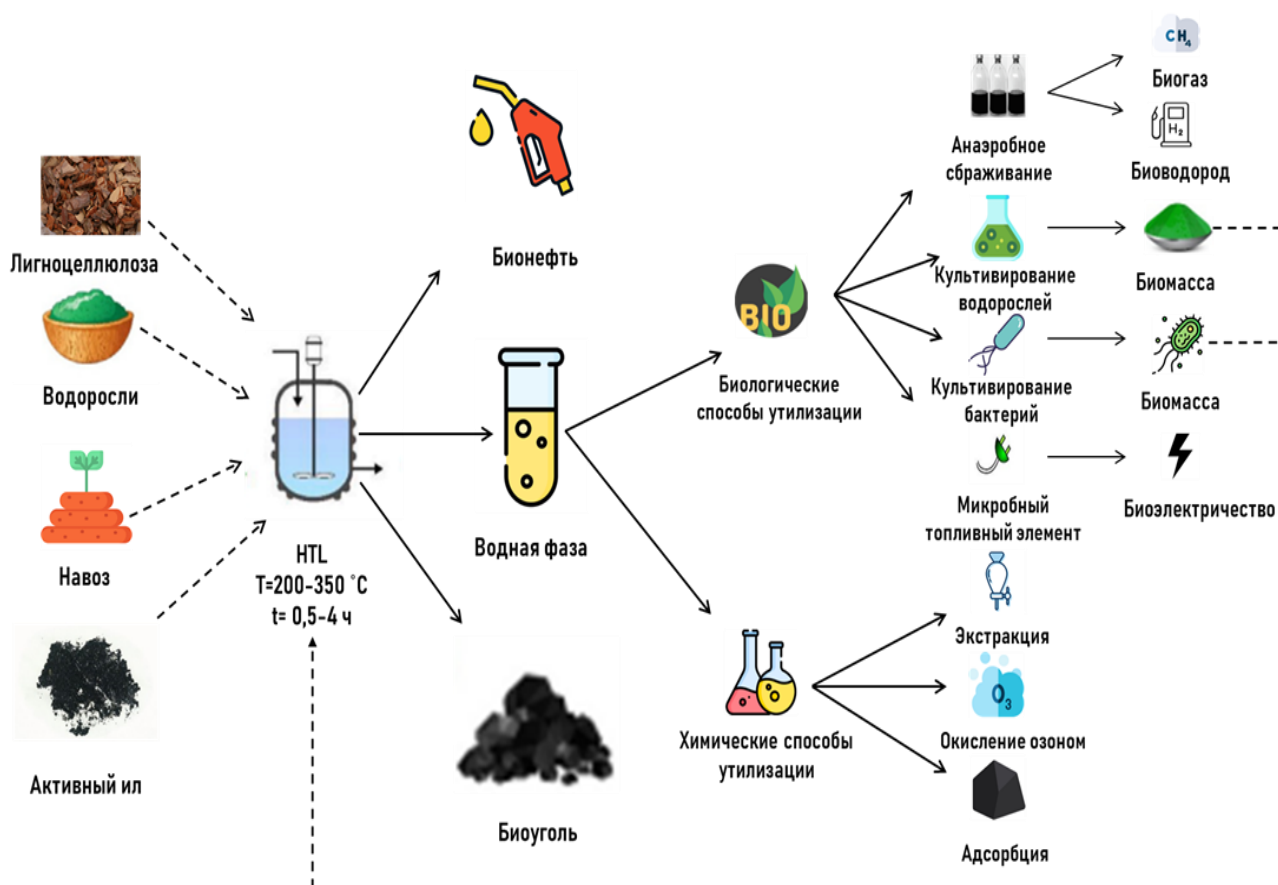


Рисунок 1.6 – Способы утилизации водной фазы процесса гидротермального ожижения

1.6.1 Методы предварительной очистки водной фазы

Поскольку водная фаза ГТО содержит большой перечень органических и неорганических соединений, являющихся ценными ресурсами и зачастую затрудняющих процессы её очистки, предлагаются различные методы предварительной очистки либо выделения ценных веществ из водной фазы с целью их дальнейшего использования.

Обработка с использованием сильных окислителей. Методы окисления, в первую очередь, включают озонирование, обработку перекисью водорода (H_2O_2), обработку ультрафиолетовыми лучами и процессы хлорирования. В основном, методы химического окисления используются в качестве первой стадии очистки водной фазы перед биологической очисткой, так как согласно литературным данным в ней содержатся соединения, способные ингибировать рост водорослей, чистых культур бактерий и метанообразующих микроорганизмов [40].

Озонирование является наиболее перспективным методом окисления компонентов водной фазы из-за его высокой эффективности. Показано [106], что кольцевые структуры ароматических и гетероциклических соединений окисляются до карбоновых кислот, которые в дальнейшем могут использоваться метанообразующими бактериями в качестве субстрата с образованием биогаза. Предварительное окисление озоном позволило снизить концентрацию фенола и N-гетероциклических соединений азота в водной фазе, полученной после ожижения навоза, более чем на 20 %.

Процессы окисления водной фазы требуют дальнейшего изучения. Кроме того, сам процесс должен тщательно контролироваться. Так, сообщается [107], что применение чрезмерного количества H_2O_2 негативно влияет на последующее анаэробное сбраживание: в результате наблюдалось увеличение продолжительности лаг-фазы и уменьшение выхода биогаза.

Мокрое окисление.

Мокрое окисление влечет за собой трансформацию растворенных веществ с использованием чистого молекулярного кислорода (O_2) или кислорода воздуха. Такой метод подходит для очистки высококонцентрированных, токсичных и неподвергающихся микробной деструкции сточных вод.

Органические примеси окисляются до CO_2 и H_2O при высоких температурах (125-350 °C) и давлении (0,5-20 МПа). Так, показано [108], что окисление компонентов водной фазы кислородом в сверхкритических условиях в течение 30 минут снизило концентрацию общего органического углерода (ООУ) на 74 %.

Приводятся зависимости изменения ХПК сточной воды от условий мокрого окисления [109]. При температуре 350 °C и давлении 9 МПа в течение 180 минут отмечено снижение показателя ХПК на 97,6 %. Эффективность окисления органических веществ данным методом напрямую зависит от условий проведения процесса: чем выше температура и давление, тем более высокая эффективность снижения ХПК и ООУ [109].

Основные недостатки такого метода состоят в высоких эксплуатационных расходах, связанных с нагнетанием воздуха (кислорода), а также в высоких энергозатратах на создание высоких температур и давления.

Адсорбция

Для процесса адсорбции компонентов водной фазы, в основном, используются различные сорбенты, такие как цеолит и активированный уголь.

Цеолит способен эффективно адсорбировать аммиак из водной фазы, и подходит для предобработки сточных вод, обогащенных соединениями азота, образующихся в результате ГТО активного ила или навоза. Показано [65], что цеолит адсорбирует не только NH_4^+ , но и органические азотосодержащие соединения.

Активированный уголь эффективно сорбирует ароматические соединения и многие другие токсичные вещества, которые ингибируют рост

бактерий в ходе дальнейшей биологической обработки воды. Сообщается [110], что предварительная обработка водной фазы процесса ГТО активированным углем позволила снизить ХПК на 33,3 %.

При сравнении между собой указанных сорбентов было показано, что активированный уголь оказался наиболее эффективным, нежели цеолит, а также показал способность регенерироваться и использоваться повторно после десорбции поглощенных примесей. Таким образом, активированный уголь может быть преимущественно рекомендован для снижения концентрации токсичных компонентов водной фазы [110].

Один из существенных недостатков процесса сорбции заключается в переносе загрязняющих веществ из одной среды (водная фаза) в другую (поры сорбента). Утилизация отработанных сорбентов остается не в полной мере решенной технико-экономической задачей. В литературе встречаются данные о регенерации активированного угля термохимическими методами [110], но такие способы являются экономически невыгодными. Биорегенерация сорбентов – один из возможных энергосберегающих способов извлечения компонентов, однако, метод не является универсальным для каждого сорбента [40].

Исследовано использование природных и модифицированных форм адсорбентов на основе скорлупы арахиса в практике очистки водной фазы ГТО [111]. Модифицированный адсорбент активировали с помощью растворов NaOH и HCl. В качестве адсорбата использовались компоненты водной фазы ГТО микроводоросли *Spirulina sp*, полученной в следующих условиях процесса ожижения: температура (260 °C), время обработки 60 мин. Установлена высокая эффективность адсорбции на полученных адсорбентах по отношению к NH_4^+ и органическим примесям.

Экстракция

Одним из методов предварительной обработки водной фазы является экстракция, с помощью которой можно избирательно выделять химические компоненты из сточной воды.

Так, для экстракции соединений из водной фазы ГТО рисовой соломы использовали петролейный эфир, циклогексан, дихлорметан и этилацетат [40]. Результаты показали, что экстракция петролейным эфиром привела к увеличению выхода метана в ходе последующего анаэробного сбраживания, что было связано с выделением фуранов, кетонов и фенолов из водной фазы

В литературе также представлены результаты экспериментальных исследований по извлечению питательных веществ из водной фазы ГТО. В частности, рассмотрены технологии по осаждению минералов струвитов (фосфатов магния и NH_4^+) и извлечения аммиака путем отдувки воздухом [112]. Струвит может использоваться в качестве фосфатного удобрения; аммиак может использоваться в промышленности и как сырье для производства аммонийных удобрений.

Экстракция является перспективным методом для селективного извлечения химических соединений из водной фазы после гидротермального ожижения органических отходов, так как позволяет получить необходимые компоненты с добавленной стоимостью, которые при этом являются основными ингибиторами процессов дальнейшей биологической очистки.

1.6.2 Биологическая конверсия компонентов водной фазы

Одним из перспективных направлений утилизации водной фазы являются биологическая обработка. Благодаря наличию большого количества биогенных элементов и легкоусвояемой органики, водную фазу можно рекомендовать в качестве основы или компонента питательной среды для культивирования водорослей и бактериальных культур, а также для проведения процессов анаэробного сбраживания с целью получения метана и биоводорода. Малоизученным является использование водной фазы в биоэлектрических системах и совместное культивирование с активным илом. Ниже рассмотрены перспективные способы утилизации водной фазы с использованием биологических методов.

Культивирование микроводорослей

Микроводоросли являются перспективным объектом для удаления загрязняющих веществ из жидких сред, таких как сточные воды, смягчения последствий изменения климата, производства биотоплива. В процессах получения биотоплива путем ГТО отходов часто используют биомассу водорослей в качестве основного сырья. При этом образующаяся водная фаза может использоваться для культивирования самих же микроводорослей, что позволяет создать замкнутый цикл производства биотоплива [40].

Ранее была исследована возможность использования биогенных компонентов водной фазы ГТО для выращивания *Chlorella vulgaris* 1067, биомасса которых в дальнейшем рассматривалась как сырье для получения бионефти в процессе гидротермального ожижения [67]. Установлено, что наибольшая продукция биомассы микроводорослей была получена при их культивировании с использованием водной фазы, полученной в процессе ГТО водорослей *Chlorella* sp. с высоким содержанием липидов и низким содержанием белков. Показано, что культуру *Chlorella vulgaris* 1067 можно выращивать на питательных средах, содержащих 1,9-28,6 % водной фазы ГТО.

В другом исследовании [97] была доказана возможность замены 50 % питательной среды для культивирования микроводоросли *Tetraselmis* sp. водной фазой ГТО, полученной в результате гидротермального ожижения биомассы этой же культуры водорослей. Водную фазу получали при 350 °C и времени ожижения биомассы 30 минут. В ходе исследований микроводоросли культивировали в закрытом фотобиореакторе. В результате экспериментальных исследований при культивировании микроводорослей в среде с добавлением водной фазы ГТО выход биомассы был сопоставим с контрольным вариантом культивирования *Tetraselmis* sp. без добавления водной фазы [113].

Таким образом, показано, что в результате ГТО биомассы микроводорослей наряду с целевым продуктом – бионефтью может быть эффективно использован побочный продукт в виде водной фазы, обладающий

ресурсной и энергетической ценностью. Использование водной фазы для культивирования микроводорослей, являющихся сырьем в процессе ГТО, позволяет повысить экономическую и экологическую эффективность процесса за счет создания замкнутого цикла получения биотоплива и воспроизводства биомассы.

По данным, представленным в литературе [89], в случае использования водной фазы в качестве единственного источника питательных веществ, важным фактором, определяющим рост водорослей, является концентрация биогенных веществ в воде. Сильное разбавление водной фазы приводит к лимитированию роста микроводорослей, в то время как высокая концентрация компонентов водной фазы приведет к угнетению роста из-за наличия токсичных соединений и субстратного ингибирования. Поэтому важной задачей при использовании водной фазы в качестве питательной среды для культивирования микроводорослей является подбор оптимальной концентрации водной фазы в питательной среде. Для развития микроводорослей в водную фазу могут вноситься дополнительные питательные вещества. Кроме того, снижение концентрации токсичных веществ (фенолов, азотсодержащих гетероциклических соединений, тяжелых металлов) в водной фазе, используемой для культивирования микроводорослей, можно достигнуть путем предварительной обработки сточной воды с использованием различных физико-химических методов. В качестве одного из направлений получения высокой продуктивности процесса получения биомассы для ГТО при культивировании ее на водной фазе ГТО является выращивание культур, устойчивых к токсическому действию компонентов. Получение таких штаммов может осуществляться методами селекции либо с применением технологии генной инженерии.

Культивирование культур микроорганизмов

Как было показано выше, содержание в водной фазе ГТО органических и биогенных элементов дает возможность использовать ее в качестве основы или компонента питательной среды для культивирования микроводорослей,

биомасса которых в дальнейшем может являться сырьем для гидротермального ожижения. По сравнению с водорослями, бактерии обладают быстрым метаболизмом и способны активнее трансформировать органические вещества.

Была оценена возможность использование водной фазы ГТО в качестве питательной среды для культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* [114]. В результате дрожжевого брожения водной фазы ГТО было достигнуто не только снижение содержания в ней токсичных компонентов, но и были получены полезные вторичные метаболиты такие как итаконовая, молочная и уксусная, лимонная кислоты, а также липиды.

Авторами были исследованы различные виды чистых культур бактерий, способных использовать в качестве субстрата компоненты водной фазы [115]. Так, осуществляли культивирование бактерий рода *Enterobacter* на средах с различными концентрациями водной фазы, полученной после гидротермального ожижения лигноцеллюлозы [115]. Было показано, что оптимальная концентрация водной фазы в составе питательной среды составляет 15 %: в этом случае прирост клеток увеличился в 9,4 раза в течение 24 часов по сравнению с контрольной средой для культивирования бактерий р. *Enterobacter*.

В работе [116] сообщается, что некоторые виды *Rhodococcus* способны ассимилировать 93,4 % ХПК водной фазы в течение 11 суток культивирования. Было показано [117], что штамм дрожжей *Yarrowia lipolytica* E26 может расти на среде с концентрацией водной фазы – 10 %. В дальнейшем после адаптационных мероприятий наблюдался рост 35 % концентрации водной фазы. В качестве основного питательного субстрата дрожжи использовали органические кислоты масляную, пропионовую и уксусную. Эти экспериментальные результаты показали хороший потенциал *Y. lipolytica* для биологической очистки водной фазы и одновременно для повышения ценности её использования. В другой работе отмечено было отмечено [107],

что максимальное ингибирующее воздействие среди компонентов водной фазы проявляют альдегиды, что приводит к повреждению белков, неправильной укладке и агрегации белковых производных.

Несмотря на проблемы токсичности отдельных компонентов водной фазы, препятствующих их микробной конверсии, были предприняты попытки использовать аэробные бактериальные монокультуры, в том числе и генетически модифицированные. Так, показано, что *Pseudomonas putida* с модифицированным геномом отличалась устойчивостью к термохимически предварительно обработанным образцам водной фазы ГТО большей, чем в 200 раз, по сравнению с обычными культурами [107].

Культивирование микроорганизмов с использованием водной фазы ГТО имеет многообещающие перспективы для получения биомассы и преобразования органических веществ. Тем не менее, сложный и многовариантный состав водной фазы требует дальнейшего изучения для реализации этой технологии на практике.

Анаэробное сбраживание компонентов водной фазы

Процесс очистки водной фазы ГТО микроводорослей от токсичных примесей может быть реализован с использованием анаэробной биомассы, иммобилизованной на инертном носителе [118,119]. Наиболее высокий метановый потенциал (203 мл $\text{CH}_4/\text{г}$ ХПК) был достигнут при анаэробной очистке сточной воды в ходе применения пенополиуретана в качестве инертного носителя. Вероятно, это связано с тем, что иммобилизованные микроорганизмы могут успешно разлагать различные органические субстраты и при этом обладают большей устойчивостью к токсичным соединениям, чем суспендированные клетки. В процессе анаэробного сбраживания водной фазы в реакторе с иммобилизованной биомассой также был отмечен рост микроорганизмов родов *Anaerobaculum* и *Coprothermobacter*, продуцирующих молекулярный водород.

В отдельных исследованиях [120] перед анаэробным сбраживанием компонентов водной фазы её обрабатывали перекисью водорода для снижения

цветности, ХПК и концентрации азотсодержащих гетероциклических соединений. Параллельно проводили исследования по фотокатализу водной фазы путем смешивания сточной воды с катализатором TiO_2 и перекисью водорода в течение 30 мин для адсорбции органических загрязнений на поверхности катализатора, после чего облучали УФ-светом в течение 72 часов. В результате исследований было установлено, что предварительное окисление обеспечило частичную деструкцию трудноокисляемых органических соединений до биоразлагаемых веществ. Кроме того, снижение концентрации N-гетероциклических соединений, подавляющих процессы биологической деструкции, за счет фазы окисления привело к более интенсивному образованию метана.

Авторами был исследован [121] процесс анаэробного сбраживания компонентов водной фазы ГТО осадка сточных вод с предварительной очисткой стоков от аммиака и фенолов путем адсорбции на биоугле, полученном в ходе процесса ГТО осадков сточных вод, что обеспечило максимальный выход метана при последующем анаэробном сбраживании (225 мл CH_4 /г ХПК). Таким образом, предварительная адсорбция фенолов и аммиака, токсичных для анаэробных микроорганизмов, приводит к повышению эффективности анаэробного процесса.

В других работах [65,122] исследован процесс очистки водной фазы, образованной в ходе ГТО биомассы *Chlorella* 1067, путем комбинирования адсорбционной обработки на цеолитах с последующим анаэробным сбраживанием и получением метана. Предварительная адсорбция применялась с целью снижения концентрации аммонийных, гетероциклических соединений и других примесей, что позволило увеличить выход метана при анаэробном сбраживании на 32-117 %.

Сочетание процесса ГТО и анаэробного сбраживания водной фазы позволяет повысить энергетическую эффективность системы за счет получения дополнительного топливного ресурса – метана. По данным авторов, содержание общего органического углерода в водной фазе составило

31,1 г/дм³, что согласуется с данными других исследований в области ГТО биомассы микроводорослей (от 3 до 80 г/дм³, в среднем 10-30 г/дм³) [40].

В отдельных работах [123,124] изучались параметры анаэробного сбраживания компонентов водной фазы ГТО в термофильных и мезофильных условиях. В результате было исследований установлено, что термофильный процесс позволяет снизить ХПК на 45 %, а мезофильное сбраживание – на 61,6 %. Высокие показатели снижения ХПК в мезофильных условиях может быть обусловлено глубокой деструкцией низкомолекулярных альдегидов и стойких ароматических соединений соответствующими микробными культурами [124].

Повышение эффективности метаногенеза и анаэробного сбраживания компонентов водной фазы процесса ГТО возможно также в совместном процессе утилизации с другими субстратами для оптимизации соотношения C:N и снижения концентрации токсичных компонентов водной фазы ГТО. Так, было показано снижение негативного ингибирующего действия при совместном сбраживании водной фазы ГТО и навоза [125]. Выход метана при этом составил 243,9-313,2 мл/г ХПК.

Таким образом, анаэробное сбраживание водной фазы ГТО позволяет увеличить энергетическую эффективность процесса гидротермального ожижения органических отходов. Эффективность конверсии органических компонентов водной фазы ГТО в метан может составлять до 300 мл/г ХПК в зависимости от свойств сырья и технологических параметров ГТО. При анаэробном сбраживании воды преобладают процессы ацидогенеза и метаногенеза, поскольку стадия гидролиза фактически завершается во время ГТО сырьевой массы. Показано [87], что чем меньше лигнина содержится в исходном сырье, тем выше выход метана при сбраживании водной фазы ГТО. Наиболее высокий выход метана достигается также при сбраживании разбавленной водной фазы ГТО со сниженной концентрацией ингибирующих компонентов.

Применение предварительной обработки водной фазы ГТО путем адсорбции, экстракции и других приемов позволяет частично или полностью удалить ингибирующие соединения (фенол, аммиак и другие примеси).

Анализ научной информации [40,74,111,112] показал, что наиболее широко используемым способом предварительной очистки водной фазы перед анаэробным сбраживанием является адсорбция на активированном угле в порошкообразном или гранулированном виде, что позволяет увеличить выход метана [126]. Некоторыми авторами [74] рассматривалось использование озонирования в качестве способа предварительной очистки, поскольку озон окисляет ароматические и азотсодержащие гетероциклические соединения с образованием кислот и амидных соединений. Однако недостатком озонирования является вероятность образования свободных радикалов, которые могут ингибировать рост анаэробной микрофлоры. Повышение эффективности анаэробного сбраживания возможно также за счет совместного сбраживания водной фазы с другими субстратами, а также за счет применения генетически модифицированных штаммов организмов, устойчивых к токсикантам.

Сообщается [40], что при анаэробном сбраживании водной фазы ГТО отмечен выход метана в количестве от 14 до 314 мл/г ХПК (среднее значение 194 мл/г ХПК), и в большинстве исследований сообщается о выходе около 200 мл/г ХПК, что соответствует 57 % эффективности использования энергии, запасенной в водной фазе ГТО. Авторами отмечается [40], что 300-350 °С является оптимальными условиями для ГТО с точки зрения извлечения наибольшего количества энергии из исходного сырья при реализации ГТО биомассы с последующим анаэробным сбраживанием сточных вод.

1.6.3 Биоэлектрохимические системы

В дополнение к традиционным технологиям биологической конверсии биоэлектрохимические системы (БЭС), включая электрохимическое окисление и электрохимическое восстановление, обеспечивают высокую эффективность конверсии стойких химических соединений с получением электричества и

водорода. БЭС не требуют повышенных температур, следовательно, являются более экономичными по сравнению с анаэробным сбраживанием [74,127].

Фенолы, производные фурана и N-гетероциклические соединения, которые оказывают токсический эффект на микроорганизмы при анаэробном сбраживании, в биоэлектрохимических системах нейтрализуются с более высокой эффективностью, чем при анаэробном сбраживании или при культивировании микроводорослей [40].

К БЭС относятся микробные топливные элементы (МТЭ) и микробные электролизеры. Данные системы используют электрохимически активные микроорганизмы для окисления органических и неорганических веществ [74].

Микробный топливный элемент состоит из анодной и катодной камер (рисунок 1.7), разделенных мембраной. Электрохимически активные микроорганизмы образуют на аноде биопленку [128, 129]. Бактерии окисляют органические вещества водной фазы ГТО, при этом в результате окислительно-восстановительных реакций электроны переносятся на катод (электрический ток). Для ускорения окислительно-восстановительных реакций на поверхности электродов обычно требуются катализаторы или искусственные электронные посредники (н/р платину). Максимальная удельная мощность МТЭ – 680 мВт/м³ была получена при использовании водной фазы, полученной при ГТО стеблей кукурузы при скорости загрузки органических веществ 2.41 г/(л/сутки) [130].

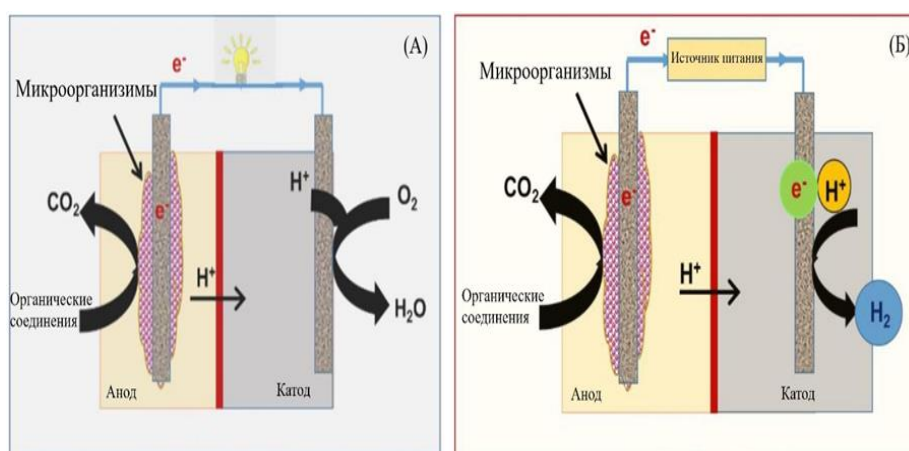


Рисунок 1.7 – Схема биоэлектрических ячеек, А – микробный топливный элемент, Б – микробный электролизный элемент

Микробные электролизеры реализуют процесс разложения органических веществ водной фазы микроорганизмами под действием электрического тока для обеспечения необходимых условий брожения. В результате процесса образуется водород. В анодном пространстве органические вещества расщепляются бактериями с выделением углекислого газа, протонов и электронов. В катодном пространстве протоны, мигрирующие от анода через протонообменную мембрану, выступают в роли акцептора электронов; при этом на катоде выделяется водород [128].

Несмотря на высокий научный интерес к БЭС, возникший как применительно к области очистки водной фазы ГТО, так и к очистке других видов сточных вод, данные технологии находятся на начальных этапах разработки. Коммерциализация данных технологий ограничивается низкой удельной мощностью (плотностью тока) для МТЭ и низкой производительностью по водороду для микробных электролизеров [131-133].

1.7 Утилизация водной фазы при совместном культивировании с активным илом

В научной литературе встречается множество работ по способам повышения добавленной стоимости водной фазы с использованием процессов анаэробного брожения, культивирования микроводорослей, культур микроорганизмов и т.д. Однако, недостаточно широко рассмотрено обезвреживание водной фазы процесса ГТО в контексте реализации стратегии интеграции этих процессов с эксплуатацией на очистных сооружениях [134-136].

Тем не менее, целесообразным является смешение водной фазы ГТО при оживлении избыточного активного ила и осадков первичных отстойников со сточной водой, поступающей на очистные сооружения. Показано [134], что смешение 0,15 % по объему водной фазы после гидротермальной карбонизации осадков сточных вод не вызывало значительного ингибирования гетеротрофных бактерий в сообществе активного ила, что,

таким образом, является эффективным приемом утилизации водной фазы. Однако, в представленном исследовании не изучено влияние водной фазы на активность нитрифицирующих и денитрифицирующих бактерий.

В других источниках [136] сообщается об ингибирующем эффекте водной фазы гидротермальной карбонизации (190 и 217 °С) избыточного активного ила на нитрификационную активность, а также о высокой доступности органических веществ водной фазы (более 80 %) для аэробной биодеградациии бактериями активного ила.

Было изучено влияние водной фазы ГТО органических отходов очистных сооружений на эффективность деструкции органических соединений и нитрифицирующую активность ила в процессе его культивирования [137]. Показано, что при увеличении концентрации водной фазы выше 0,5 % (об.) при смешении со сточной водой гетеротрофная активность микробного сообщества активного ила снижалась на 17 % по обезвреживанию органических соединений, а нитрифицирующая активность микроорганизмов практически полностью подавлялась. Авторы предположили, что наличие в водной фазе N-гетероциклических соединений блокируют процессы окисления NH_4^+ до нитрат-ионов (NO_3^-) и приводят не к гибели нитрифицирующих бактерий, а к ингибированию фермента аммониймоноксигеназы, катализирующего окисление аммонийного азота с образованием нитритов [138].

Отмеченное ингибирование ферментов процесса нитрификации компонентами водной фазы ГТО не приводит к гибели микроорганизмов. Так, проводилась оценка ингибирующего действия различных полициклических ароматических соединений на микроорганизмы активного ила [139]. Было отмечено ингибирование процесса нитрификации, которое, тем не менее, не сопровождалось уменьшением бактериального разнообразия активного ила. Таким образом, что ферменты микроорганизмов-нитрификаторов могут быть ингибированы, но микробиом, в целом, остается жизнеспособным и активным. Результаты, представленные в этом исследовании, также дают основание

предположить, что соединения, присутствующие в водной фазе, ингибируют бактерии, окисляющие NH_4^+ , в большей степени, чем нитритокисляющие бактерии.

В отдельных работах [139] проводился метагеномный анализ активного ила при его смешении с водной фазой процесса ГТО. Доминирующим оказались филумы и рода *Proteobacteria* (30-40 %), *Bacteroida* (20-28 %), *Chloroflexi* (8-13 %), *Nitrospirota* (4-9 %), *Planctomycetota* (4-8 %), *Acidobacteriota* (4-7 %) и *Firmicutes* (1-5 %).

Бактерии, относимые к филуму *Chloroflexi*, в основном, участвуют в разложении сложных органических и полимерные соединений [140], и развитие этого типа бактерий в сообществе свидетельствует об их присутствии в составе водной фазы. Следует отметить, что добавление водной фазы к сточной воде вызвало изменение активной реакции среды, сопровождающееся увеличением содержания микроорганизмов, отнесенных к филумам *Firmicutes* и *Acidobacteriota*, проявляющих высокую толерантность к трудноокисляемым соединениям водной фазы в этих условиях. Количество нитрифицирующих бактерий не отличалось от контрольного опыта, что подтверждает ранее проведенные исследования об ингибировании их ферментов, но не об уменьшении жизнеспособности самих нитрифицирующих микроорганизмов [141].

Исходя из вышесказанного можно сделать вывод, что для повышения эффективности обезвреживания водной фазы при ее смешении со сточной водой и дальнейшем культивировании с активным илом представляется целесообразным предварительно изъять из водной фазы N-гетероциклические соединения, которые препятствуют процессу нитрификации даже в концентрациях, меньших 5 мкг/дм^3 . Для этого можно использовать предварительную физико-химическую обработку водной фазы с использованием адсорбентов [142], либо значительное разведение до 1 % от объема в зависимости от очистных сооружений или состава водной фазы.

1.8 Сочетание методов утилизации водной фазы

В литературном обзоре рассмотрены основные методы по утилизации водной фазы, полученной после гидротермального ожигения органических отходов. Каждый способ утилизации имеет свои преимущества и недостатки, сведенные в таблицу 1.1.

Таблица 1.1 – Преимущества и недостатки методов утилизации водной фазы

Способ утилизации	Преимущества	Недостатки
Культивирование водорослей	Эффективное изъятие биогенных элементов. Биомассу водорослей можно повторно использовать для ожигения.	Необходимо значительное разбавление водной фазы. Низкая эффективность удаления органических веществ.
Анаэробное сбраживание	Эффективное изъятие органических веществ. Низкие затраты энергии. Низкий прирост биомассы. Получение энергоносителя в виде газов CH_4 и H_2 .	Чувствительность биоценоза к токсичным компонентам водной фазы. Требуется предобработка водной фазы. Низкая скорость процесса.
Биоэлектрические системы	Эффективная конверсия органических веществ. Низкий прирост биомассы. Получение электроэнергии.	Требуется разбавление. Дороговизна. Низкая эффективность удаления биогенных веществ.
Очистка с активным илом	Эффективная конверсия органических веществ. Высокая скорость процесса. Возможность интеграции на действующих очистных сооружениях.	Требуется значительное разбавление сточной водой. Ингибирование процесса нитрификации. Ограниченное удаление питательных веществ.

Для глубокой очистки водной фазы от загрязняющих веществ недостаточно использовать только один из методов обезвреживания. Недостатки каждого из способов можно нивелировать последовательным культивированием организмов в различных условиях. В частности, культивирование чистых культур бактерий и анаэробное сбраживание предполагает удаление, в основном, только органических соединений и

незначительного количества биогенных элементов (азота и фосфора), что может привести к эвтрофикации водоемов.

Использование водорослей позволяет эффективно удалить соединения азота и фосфора, но отличается низкой степенью очистки от органических веществ. Культивирование водорослей с использованием сточных вод процесса анаэробного сбраживания различного сырья широко изучалось [143]. Эти исследования показали возможность успешной интеграции анаэробной ферментации и культивирования водорослей и подтвердили, что интеграция этих процессов обеспечивает преимущества, в том числе, снижение «углеродного следа» процесса и лучшее управление производственными затратами, чем при обычном культивировании водорослей [143]. Кроме того, токсичные соединения, такие как фенолы, фурановые соединения и N-гетероциклы в водной фазе, могут быть частично или полностью разложены во время анаэробной ферментации, и такая детоксикация среды может повысить эффективность культивирования водорослей. Эта гипотеза была подтверждена результатами высокой скорости роста биомассы и биологического потребления компонентов водной фазы ГТО, предварительно обработанной в процессе анаэробной ферментации [59].

1.9 Выводы по аналитическому обзору литературы

Количество и объем осадков сточных вод ежегодно увеличиваются в результате роста населения и совершенствования централизованных систем канализации [120]. Необходимым является разработка эффективных методов утилизации осадков сточных вод, которые соответствуют современным требованиям. К одному из наиболее перспективных методов утилизации осадков относится их гидротермальное ожижение (ГТО).

В литературном обзоре были подробно рассмотрены качественный и количественный состав водной фазы, образующейся в процессе ГТО влажных

органических отходов, а также способы очистки и повышения стоимости водной фазы.

Показано, что водная фаза процесса ГТО является высококонцентрированной по органическим соединениям (значения ХПК находятся в интервале от 10 до 100 г О/дм³), биогенным элементам (концентрации NH_4^+ и PO_4^{3-} составляют от 0,1 до 2,5 г/дм³; от 0,02 до 6 г/дм³, соответственно) в зависимости от типа исходного сырья. По качественному составу в ней встречается большая группа органических соединений: карбоновые кислоты, спирты, ароматические соединения, кетоны, альдегиды, пиридины, N-гетероциклические соединения.

Водную фазу можно использовать в различных процессах в качестве растворителя или реакционной среды для последующих циклов ожижения и преобразования её компонентов в энергоресурсы: биоэлектричество, биоводород, биогаз с использованием соответствующих технологий; как питательную среду для культивирования водорослей и бактериальных культур.

Далее следует отметить, что эффективность этих методов на сегодняшний день, довольно низка, в основном, из-за наличия токсичных компонентов в водной фазе (ионов тяжелых металлов, N-гетероциклических соединений, кетонов, альдегидов и т.п.). Поэтому с целью повышения степени очистки в технологиях обезвреживания водной фазы необходимо учитывать стадии предобработки для изъятия токсичных элементов и последующей биологической конверсии с дальнейшим получением ценных продуктов.

Таким образом, интегрированные способы утилизации водной фазы ГТО имеют достаточно высокий потенциал для увеличения экономической эффективности процесса гидротермального ожижения, в целом.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования включали следующие этапы:

1. Физико-химический анализ и оценка токсичности образцов водной фазы, полученной в результате гидротермального ожижения избыточного ила и осадков первичных отстойников;
2. Получение изолятов активного ила – культур микроорганизмов-деструкторов компонентов водной фазы и оценка эффективности их использования для обезвреживания водной фазы;
3. Исследование микроводорослей в процессах доочистки водной фазы от биогенных элементов после ее обезвреживания изолятами активного ила;
4. Анализ процесса совместной биологической очистки водной фазы с коммунально-бытовыми сточными водами.

Теоретические и экспериментальные исследования были проведены на кафедре промышленной биотехнологии ФГБОУ ВО КНИТУ.

2.1 Объекты исследований

В качестве объектов исследований выступали:

1. Водная фаза процесса гидротермального ожижения биомассы избыточного активного ила в смеси с осадками первичных отстойников коммунально-бытовых очистных сооружений г. Калининград;
2. Бiotест-объекты: трехсуточная культура инфузорий *Paramecium caudatum* и наупии рачков *Artemia salina*, находящиеся на эндогенном дыхании;
3. Микробные изоляты – деструкторы компонентов водной фазы гидротермального ожижения избыточного активного ила, полученные из активного ила ПАО «Нижнекамскнефтехим» г. Нижнекамск, Республика Татарстан;

4. Цеолит Татарско-Шатрашанского месторождения, Республика Татарстан, фракции размером 1-1,5 мм с насыпной плотностью 0,69 г/см³;

5. Сорбент, полученный в результате низкотемпературного пиролиза (500 °С) избыточного активного ила ПАО «Нижнекамскнефтехим» фракции средним размером 0,25 мм с насыпной плотностью 0,78 г/см³;

6. Культуры микроводорослей из коллекции IPPAS ИФР РАН: *Chlorella sorokiniana* – C1; *Chlorella vulgaris* – C2; *Chlorella ellipsoidea* – C8; *Parachlorella kessleri* – C9; *Chlorella pyrenoidosa* – C26; *Chlorella zofingiensis* – C108; *Chlorella minutissima* - C123; *Chlorella sp* – C1210; *Nannochoris sp* – C1509;

7. Активный ил коммунально-бытовых очистных сооружения г. Иннополис, Республика Татарстан.

2.2 Получение водной фазы гидротермального ожижения

Процесс осуществляли в реакторе автоклавного типа Eartha Zhang's (Китай) с внешним обогревом, объемом 300 мл (рисунок 2.1). Во всех экспериментах по гидротермальному ожижению температура составляла от 240 до 280 °С, время реакции – от 10 до 60 минут, давление – 3,2-6,5 МПа.



Рисунок 2.1 – Реактор для гидротермального ожижения осадков сточных вод и избыточного активного ила

После проведения процесса ожижения реактор охлаждали, полученный биоуголь отделяли от жидкой фазы фильтрованием через бумажный фильтр. Затем после добавления дихлорметана жидкую фазу разделяли декантированием на углеводородную (бионефть) и водную компоненты.

Основные физико-химические показатели сырья для гидротермального ожижения представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Физико-химические характеристики осадков первичных отстойников и избыточного активного ила

Параметр	Осадки первичных отстойников	Избыточный ил
Содержание С, %	54,58 ± 2,33	56,6 ± 0,31
Содержание Н, %	8,20 ± 0,28	8,93 ± 0,11
Содержание О, %	25,30 ± 0,96	20,74 ± 0,18
Содержание N, %	4,22 ± 0,25	10,22 ± 0,12
Зольность, %	26,93 ± 0,23	31,30 ± 0,13
Концентрация липидов, %	5,2 ± 0,5	10,2 ± 0,7
Концентрация белков, %	9,98 ± 0,21	20,32 ± 0,21
Концентрация углеводов, %	57,98 ± 0,26	38,17 ± 0,25
Теплота сгорания, МДж/кг	7,41	8,69
Влажность, %	92-95	92-98

2.3 Оценка интегральной токсичности водной фазы с использованием биотест-объектов

Интегральную токсичность водной фазы процесса гидротермального ожижения избыточного активного ила и осадков сточных вод оценивали на основании результатов смертности стандартных тест-объектов – инфузорий *Paramecium caudatum* и рачков *Artemia salina*.

2.3.1 Оценка токсичности с использованием *Paramecium caudatum*

Для оценки токсичности с использованием культуры *Paramecium caudatum* использовали модифицированный метод [144].

Оценку токсичности образцов водной фазы осуществляли на основании смертности (обездвиженности) особей тест-объекта под воздействием экотоксикантов, содержащихся в водной фазе, полученной в процессе гидротермального ожижения биомассы избыточного активного ила и первичных осадков:

$$T = \frac{a - b}{a} \cdot 100 \%, \quad (2.1)$$

где a , b – количество подвижных инфузорий до и после окончания опыта, соответственно.

В серию лунок микроаквариумов с помощью пипетки Пастера помещали каплю культуральной жидкости объемом $0,02 \text{ см}^3$, содержащей 8-15 особей инфузорий. Туда же вносили $0,3 \text{ см}^3$ испытуемой сточной воды, в контрольную лунку $0,3 \text{ см}^3$ дехлорированной водопроводной воды. После часовой экспозиции при $20-24 \text{ }^\circ\text{C}$ подсчитывали количество живых особей [144].

Токсичность оценивали, используя разведение исходной сточной воды: в 1, 10, 100 и 1000 раз дехлорированной водой. Среднее летальное разбавление КР (50) устанавливали графическим способом [145].

2.3.2 Оценка токсичности с использованием *Artemia salina*

Цисты рачков *Artemia salina* инкубировали в воде с концентрацией NaCl (1%), в оптимальных условиях инкубации [146].

Оценку токсичности осуществляли на основании смертности артемий под воздействием экотоксикантов, содержащихся в водной фазе:

$$T = \frac{a}{b} \cdot 100 \%, \quad (2.2)$$

где a – количество исходных особей, b – количество погибших особей в тестируемой воде за 48 часов.

Для биотестирования использовали широкогорлые сосуды, в которые наливали по 10 см^3 испытуемой жидкости или культивационной воды (контроль).

В каждый из 5 сосудов помещали по 4 особи артемий; таким образом, в целом, в каждом эксперименте и контроле использовали по 20 особей. Сосуды с рачками оставляли на 48 часов при температуре (21 - 25) °С в климатостате P2 (ООО «Европолитест», Россия). По истечении этого времени производили подсчет выживших и погибших особей. Выжившими считались артемии, которые свободно перемещались в толще воды. Обездвиженных особей относили к погибшим [146].

2.4 Оценка физико-химических показателей сточных вод

Количественное определение биологического потребления кислорода (БПК₅), химического потребления кислорода (ХПК), NH_4^+ , нитрит-(NO_2^-), нитрат-ионов (NO_3^-), PO_4^{3-} определяли по стандартным методикам [147-152].

Общее содержание азота определяли методом Кьельдаля с использованием полуавтоматической системы Behr Labor Technik (Дюссельдорф, Германия). Общее содержание углерода оценивали с помощью автоматического элементного анализатора Elementar TOC enviro (Лангензельбольд, Германия).

2.5 Качественное определение компонентов водной фазы

Качественный состав водной фазы процесса гидротермального ожижения биомассы избыточного активного ила и осадков сточных вод изучали с использованием методов ЯМР-спектроскопии и газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.

2.5.1 ЯМР-спектроскопия

Образцы водной фазы предварительно были лиофилизированы. Сухой остаток дополнительно растворяли в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMSO-D₆) и оксиде дейтерия (D₂O) (10% от объема водной фазы). ЯМР-спектроскопию проводили на спектрометре Bruker Avance (Bruker, США).

Выбор условий приготовления раствора, методики и порядок обработки результатов экспериментальных исследований основывались на имеющихся данных литературы [50,153,154].

2.5.2 Газовая хроматография

Состав водной фазы определяли с помощью газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 9000» (ЗАО СКБ «Хроматэк» Россия) с масс-спектроскопическим детектором. Режим термостата: начальная температура 40 °С, затем подъем до 250 °С со скоростью 10 С/мин, затем подъем до 290 °С со скоростью 5 С/мин, выдержка при конечной температуре 11 мин. Общее время анализа 40 мин; колонка CR-5MS, поток газа-носителя 1 мл/мин; температура испарителя 270 °С; температура источника 230 °С.

2.6. Получение микроорганизмов-деструкторов

Изоляты, способные осуществлять деструкцию компонентов водной фазы, получали путем культивирования в течение 48 ч сообщества активного ила очистных сооружений ПАО «Нижекамскнефтехим» на водной фазе гидротермального ожигения биомассы избыточного активного ила. Основанием для выбора источника выделения отдельных культур являлась высокая степень адаптации микроорганизмов активного ила к различным углеводородам в составе сточных вод указанного предприятия.

В качестве питательного субстрата для бактерий выступали компоненты водной фазы, разбавленной десятикратно. По истечении времени культивирования из надильной жидкости, представляющей собой биологическую среду после отстаивания активного ила, производили высеv на агаризованные питательные среды методом предельных разведений [155] с использованием в качестве единственного источника углерода и биогенных элементов компоненты водной фазы. Чистые культуры получали методом

истошающего штриха. Чистоту выделенных культур проверяли микрокопированием на микроскопе «Zeiss Axio Observer» (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия).

2.7 Изучение культуральных и физиолого-биохимических свойств

ИЗОЛЯТОВ

Изучение способности изолятов использовать различные органические соединения (гексозы, пентозы, низшие спирты) в качестве единственного источника углерода и энергии определяли путем внесения в расплавленную агаризованную среду исследуемого субстрата.

Далее на плотную агаризованную среду штрихом высевали культуры и инкубировали 5 суток при температуре 37 °С [155,156].

Состав основной среды (г/дм³): глюкоза – 20,0; K₂HPO₄ – 1,0; KH₂PO₄ – 1,0; MgSO₄ × 7H₂O – 0,5; NaCl – 0,5; агар – 15,0.

Для оценки способности бактерий использовать различные источники азота готовили два варианта среды. В первом варианте добавляли 1,0 г/дм³ NH₄Cl и 5,0 г/дм³ CaCO₃, во втором – 1,0 г/дм³ KNO₃. Посев осуществляли штрихом, продолжительность культивирования 5 суток при температуре 37 °С, рост отмечали визуально.

Протеолитическую активность определяли по способности микроорганизмов гидролизовать казеин [156], липолитическую активность оценивали по образованию вокруг штриха непрозрачной зоны кальциевых солей жирных кислот, освобожденных из твин-20 [156]. Гидролиз крахмала оценивали по реакции с раствором Люголя после выращивания культуры на агаризованной среде с добавлением 0,2% раствора крахмала. Активность каталазы выявляли, нанося 3% раствор перекиси водорода на штрих исследуемых культур, выращенных на агаризованной среде [156].

2.8 Молекулярно-генетическая идентификация микроорганизмов

Микроорганизмы в составе изолятов идентифицировали с помощью секвенирования гена 16S рРНК с последующим сравнением последовательности с базой данных GeneBank [NCBI]. Бактериальную ДНК выделяли с использованием набора ExtractDNA Blood & Cells (ЗАО «Евроген», Россия) в соответствии с рекомендацией производителя. Концентрацию выделенной ДНК измеряли на флуориметре Qubit 2.0 (Invitrogen, США) с использованием флуоресцентного красителя «QuDye dsDNA Assay Kit». Ген 16S рРНК амплифицировали в ПЦР, используя универсальные для 16S рРНК прокариот праймеры: 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 1492r (5' GGYTACCTTGTTACGACTT 3') [157]. ПЦР осуществляли на амплификаторе C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Полученный фрагмент разгоняли на электрофорезе в 2%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия и очищали из геля с помощью набора CleanUp Mini (ЗАО «Евроген»). Секвенирование ПЦР-фрагментов выполняли на генетическом анализаторе 3500xL Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific, США). Сходство последовательностей генов 16S рРНК проводили по базе данных GeneBank [NCBI] с помощью пакета программ BLAST. Штаммы идентифицировали по наибольшему совпадению последовательностей со штаммами известных видов в коллекции GenBank.

2.9. Исследование кинетики, равновесия и термодинамики процесса адсорбции

Сорбционная ёмкость исследованных сорбентов по отношению к основным поллютантам на основе полученных экспериментальных результатов рассчитывалась по формуле (2.3) [158]:

$$A = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m}, \quad (2.3)$$

где A – сорбционная емкость по изучаемому поллютанту (ммоль/г), C_0 – начальная концентрация поллютанта в растворе (ммоль/дм³), C_e – его концентрация после сорбции из раствора (ммоль/дм³), V – объем раствора (дм³), m – масса сорбционного материала (г).

С целью определения закономерностей процесса адсорбции были построены изотермы адсорбции и рассчитаны коэффициенты корреляции для уравнений полученных изотерм.

В работе были рассмотрены наиболее часто применяемые модели для описания процесса сорбции: Ленгмюра (уравнение 2.4), Фрейндлиха (уравнение 2.5) и Дубинина-Радускевича (уравнение 2.6) [158-160]:

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{Q_0} + \frac{1}{(b \cdot Q_0 \cdot C_e)}, \quad (2.4)$$

$$\log A = \log K_F + \frac{1}{n} \cdot \log C_e, \quad (2.5)$$

$$\ln A = \ln X_m - \beta e^2, \quad (2.6)$$

где A – сорбционная ёмкость по фенолу (ммоль/дм³), C_e – равновесная концентрация, b – константа сорбционного равновесия, характеризующая интенсивность сорбции (дм³/ммоль), Q_0 – предельное количество сорбированного фенола (ёмкость монослоя) (ммоль/г), K_F – константа равновесия уравнения Фрейндлиха, относящаяся к адсорбционной ёмкости и $1/n$ – параметр, указывающий на интенсивность взаимодействия адсорбент – адсорбат, X_m – максимальная сорбционная емкость (ммоль/г), β – константа, связанная с энергией адсорбции, e – потенциал Поляни, описывающий работу 1 моля вещества, переносимого из раствора к поверхности изучаемого сорбента и определяемый по формуле 2.7. Энергия сорбции рассчитывалась по формуле 2.8, энергия Гиббса по уравнению 2.9 [168].

$$e = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right), \quad (2.7)$$

$$E = (-2\beta)^{-0,5}, \quad (2.8)$$

$$\Delta G = -RT \ln b, \quad (2.9)$$

где R – универсальная газовая постоянная ($8,314 \cdot 10^{-3}$ кДж/(моль·К), T – температура сорбции (К), β – константа Дубинина-Радушкевича.

2.10 Оценка способности бактерий к формированию биопленок на водной фазе

Способность бактерий к образованию биопленок в процессе их культивирования в водной фазе определяли окрашиванием биопленки красителем генцианфиолетовым [161]. Водную фазу разводили дистиллированной водой в 10, 5, 3 и 2 раза (содержание водной фазы 10 %, 20 %, 33 % и 50 %, соответственно), далее инокулировали бактериальными культурами и культивировали в 96 луночных планшетах при температуре 37 °С в течение 72 часов в статических условиях. Затем микробные биопленки трехкратно промывали фосфатным буфером, высушивали и окрашивали красителем генцианфиолетовым в темноте 30 минут. Несвязанный краситель тщательно отмывали стерильной водопроводной водой; связанный экстрагировали 96 % этанолом; оптическую плотность экстрагированного красителя измеряли при $\lambda=570$ нм на планшетном риддере «Feyond A-300» (Allsheng, Китай) [162].

2.11 Определение кинетических параметров культивирования микроводорослей

Рост культуры оценивали по измерению оптической плотности ОП 750 культуры и приросту биомассы [163]. Отобранные для измерения сухой массы пробы осаждали центрифугированием, фосфатным буфером и высушивали полученный осадок в предварительно взвешенных емкостях в сушильном шкафу 24 ч при температуре 80 °С [163]. Удельную скорость роста μ вычисляли по изменению концентрации биомассы по формуле 2.10:

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{N_2}{N_1}\right)}{t_2 - t_1}, \quad (2.10)$$

где μ – удельная скорость роста (сут^{-1}), N_1 и N_2 – количество биомассы культуры (г/дм^3), отнесенной к моментам времени культивирования t_1 и t_2 , соответственно.

Время удвоения биомассы $T_{\text{удв}}$ (сут^{-1}) рассчитывали по удельной скорости роста по формуле 2.11:

$$T_{\text{удв}} = \frac{\ln(2)}{\mu} \quad (2.11)$$

Конечный прирост Π_k определяли по разности концентраций биомассы в начале и в конце культивирования [163].

2.12 Определение состава биомассы водорослей при культивировании на водной фазе

Состав биомассы водорослей определяли по содержанию белка, углеводов, липидов и золы.

В стационарной фазе роста культуры отделяли от водной фазы, промывали дистиллированной водой. Сухую биомассу получали путем высушивания полученного осадка в предварительно взвешенных емкостях в сушильном шкафу в течение 24 ч при температуре 80 °С [163]. Далее определяли количественный состав сухой биомассы.

2.12.1 Определение концентрации белка

Клеточные белки экстрагировали растворением осадка в изоэлектрофокусирующем буфере. Клеточный лизат обрабатывали на ультразвуковой установке в течение 1 мин. при частоте 30 кГц. Осадок центрифугировали в течение 1 мин. при 10000 об/мин, отмывали ацетоном в

соотношении 1:4 и инкубировали при температуре 4 °С в течение 20 мин. Концентрацию белка определяли методом Брэдфорд [164].

2.12.2 Определение содержания полисахаридов

Полисахариды в биомассе водорослей определили с помощью антронового реактива. Предварительно клетки водорослей нагревали до температуры 95 °С в течение 10 мин. После озвучивали клетки в течение 1 мин. при частоте 30 кГц, суспензию остужали и добавляли антроновый реактив в соотношении 1:3, выдерживали в течение 20 мин. и определяли концентрацию. Количество полисахаридов определяли при длине волны $\lambda = 620$ нм [165].

2.12.3 Определение содержания липидов

В колбу содержащую сухую биомассу водорослей добавляли смесь растворителя (гексан: хлороформ в соотношении 1:1 по объему) 100 мл на 1 г/АСБ. Экстракцию парами растворителя осуществляли кипячением с обратным холодильником в течение 2 часов. По прошествии времени избыток растворителя удаляли на роторном испарителе при температуре 40 °С и $P = 0,07$ МПа [166].

2.13 Методы оценки активного ила

Дегидрогеназную активность микроорганизмов активного ила определяли стандартным фотометрическим методом, основанном на восстановлении трифенилтетразолий хлорида при участии дегидрогеназ в биологических системах до трифенилформазана, растворимого в этиловом спирте [167]. Дозу, зольность, иловый индекс, мутность надильной жидкости оценивали с использованием стандартизованных методов [168].

2.13.1 Микрокопирование образцов активного ила

Микрокопирование осуществляли методом «раздавленная капля» на микроскопе Микмед-5 (АО «Ломо», Россия, г. Санкт-Петербург). Пипеткой Пастера отбирали иловую смесь объемом 0,1 см³ и накрывали покровным стеклом. В каждой капле просматривали по 40 полей зрения при 400-кратном увеличении [169,170].

Дисперсный образцов активного ила определяли микрокопированием препарата «раздавленная капля» с помощью сканирующего микроскопа Carl Zeiss (Германия). Количественную оценку размера хлопьев активного ила проводили с помощью программы «LSM Imagine Examiner».

2.13.2 Оценка состояния активного ила по индексам биоразнообразия

Для оценки состояния активного ила по индексам биоразнообразия проводился подсчет простейших микроорганизмов в препарате «раздавленная капля». На основании количественного подсчета были рассчитаны такие индексы как: Шеннона, Куба, Маргалефа, Паляя-Ковнацки. Помимо расчета основных индексов определялись доминирующие группы микроорганизмов в составе активного ила [171-174].

2.14 Статистическая обработка результатов

Обработка результатов экспериментов проводилась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2019 и Origin 2019 Pro с оценкой достоверности по критерию Стьюдента-Фишера. Использовали параметрический t-критерий Стьюдента. Различие считали достоверным при уровне значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ И КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ВОДНОЙ ФАЗЫ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД И ИЗБЫТОЧНОГО ИЛА

Для гидротермального ожижения (ГТО) использовали осадки первичных отстойников (ОПО) и избыточную биомассу активного ила (ИИ) коммунально-бытовых очистных сооружений.

Стандартными условиями реализации процесса ГТО были следующие: температура (260 °С), время реакции (20 минут), гидромодуль 1:10.

Для интенсификации процесса и увеличения выхода бионефти процесс ГТО проводили в присутствии гомогенных и гетерогенных катализаторов (цеолит, CuSO_4 , Al_2O_3 , NiSO_4 , MoO_3 , $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, CoCl_6).

По окончании процесса ГТО экспериментально оценивали физико-химические показатели водной фазы, токсичность для биологических объектов, качественный состав и целесообразность применения биологической очистки для обезвреживания ее компонентов.

3.1 Физико-химические показатели водной фазы процесса гидротермального ожижения

В таблице 3.1 представлены результаты оценки физико-химических показателей водной фазы процесса гидротермального ожижения.

Таблица 3.1 – Физико-химические показатели водной фазы

Условия проведения процесса*	pH	Общий неорганический С (г/дм ³)	Общий органический С (г/дм ³)	ХПК (г/дм ³)	БПК ₅ (г/дм ³)
ИИ, стандартные, 1:15	7,14 ± 0,35	0,93 ± 0,03	5,298 ± 0,58	8,0 ± 0,9	6,7±1,1
ИИ, стандартные, 1:20	7,51±0,37	0,79±0,02	3,32±0,43	8,0±1,1	6,0±0,7

Продолжение таблицы 3.1

1	2	3	4	5	6
ИИ, стандартные, 10 минут	6,41±0,33	0,74±0,03	6,56±1,01	8,8±1,8	8,1 0,7
ИИ, стандартные, 15 минут	6,38±0,32	0,97±0,01	6,63±0,34	8,0±0,8	7,5±0,5
ИИ, стандартные,	7,03±0,35	0,31±0,01	6,31±1,55	10,0±1,3	7,3±0,9
ИИ, стандартные, 30 минут	7,56±0,37	0,43±0,02	4,56±0,96	6,1±1,0	4,6±0,8
ИИ, стандартные, цеолит	7,37±0,36	0,65±0,04	6,99±0,07	10,0±0,7	8,0±0,4
ОПО, стандартные, цеолит	7,01±0,45	0,56±0,02	9,5±0,90	12,0±0,6	6,9±0,6
ОПО, стандартные, CuSO ₄	6,78± 0,33	0,91±0,05	4,17±0,50	12,0±1,4	7,8±0,9
ОПО, стандартные, NH ₄ Fe(SO ₄) ₂	9,28±0,46	0,38±0,01	9,32±0,71	10,0±1,2	8,0±1,0
ОПО, стандартные, Al ₂ O ₃	9,03±0,45	0,97±0,05	7,42±0,54	10,0±0,9	7,9±1,3
ОПО, стандартные, NiSO ₄	7,23±0,36	0,91±0,06	6,17±1,30	14,0±0,5	7,9±0,7
ОПО, стандартные, MoO ₃	8,09±0,40	0,57±0,02	6,95±0,74	12,0±1,6	8,0±1,3
ОПО, стандартные, CoCl ₆	5,92±0,24	0,49±0,03	5,3±0,4	9,3±0,21	6,3±0,4
* - Если процесс проводился в условиях, отличных от стандартных или с использованием катализаторов, переменный параметр указывался отдельно, например: «1:15» означает, что было взято другое соотношение биомасса:вода.					

Согласно результатам экспериментальных исследований значения рН образцов водной фазы варьировали в диапазоне от 5,92 до 9,3, что соответствует литературным данным по ожижению избыточного активного ила [47]. Образец, для обработки которого в качестве катализатора использовался CoCl₆, имел самое низкое значение рН, чего и следовало ожидать из-за присутствия в нем сильного аниона и относительно слабого катиона; аналогичные результаты были отмечены при использовании катализатора CuSO₄.

В то же время использование оксида алюминия и железоммонийных квасцов в качестве катализатора приводит к подщелачиванию водной фазы.

Далее, следует отметить, что органическое вещество ОПО и биомасса ИИ хорошо сбалансированы по составу и в результате гидротермального

ожижения содержат значительные количества липидов и белков (таблица 2.1) вследствие чего сдвига рН в область кислых значений не наблюдалось.

Результаты исследования количественных показателей водной фазы процесса ГТО показали значительные колебания концентрации органических соединений и степени их биологической деструкции. Так, значения ХПК в анализируемых образцах варьировали от 7890 мгО/дм³ до 14 000 мгО/дм³, причем величина биологически доступной части органических веществ по БПК₅ составляла от 5955 до 8137 мгО/дм³ в зависимости от условий проведения процесса ГТО. Максимальный уровень органического загрязнения водной фазы был отмечен для процесса гидротермального ожижения ОПО с использованием в качестве катализатора, CuSO₄ и NiSO₄: 12,1 и 14,0 г/дм³ по ХПК, соответственно.

Исходя из отношения ХПК к БПК₅ (таблице 3.1), следует сделать вывод, что компоненты образцов водной фазы, полученных при обработке осадка без использования катализаторов или с использованием цеолита в качестве катализатора, будут иметь наибольшую биодоступность. Вероятно, высокий биохимический показатель для водной фазы процесса ГТО без использования катализаторов связан с тем, что каталитический процесс гидротермального ожижения в субкритических условиях может сопровождаться взаимодействием органических компонентов водной фазы с образованием более сложных молекулярных структур, которые в дальнейшем не подвергаются минерализации без использования специализированной микрофлоры [175].

При оценке влияния времени процесса на общее содержание растворенных органических соединений были получены интересные результаты. Концентрация органических соединений не изменяется при проведении процесса в течение 10 и 15 мин, но при увеличении времени реакции до 20 минут наблюдается резкое увеличение содержания органических соединений по общему органическому углероду (на 40 %), а дальнейшее увеличение времени приводит к снижению уровня органического загрязнения.

Можно предположить, что время для конверсии органических соединений, таких как углеводы, с максимальным образованием растворимых карбоновых кислот и спиртов составляет около 20 мин. С увеличением продолжительности процесса эта группа соединений подвергалась дальнейшей химической трансформации с образованием газовой фазы (CO₂, CO) и биоугля [176].

3.2 Оценка интегральной токсичности водной фазы с использованием биотестирования

Результаты определения токсичности водной фазы процесса ГТО с использованием инфузорий *Paramecium caudatum* в качестве тест-объектов представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Результаты биотестирования на инфузориях *Paramecium caudatum* после часа экспозиции

Условия процесса	Кратность разбавления исходной водной фазы	Среднее количество выживших инфузорий		Смертность тест-объектов, %	Степень токсичности среды
		Контроль	Испытуемый раствор		
ИИ, стандартные, 1:20	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	3,4	66	высокотоксичный
	1:100	10	7	30	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 30 минут	1:1	10	0	0	высокотоксичный
	1:10	10	2,3	77	высокотоксичный
	1:100	10	7,4	26	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, цеолит	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	4,4	56	высокотоксичный
	1:100	10	8,5	15	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 1:15	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	3,7	63	высокотоксичный
	1:100	10	8,6	14	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный

Продолжение таблицы 3.2

1	2	3	4	5	6
ИИ, стандартные, 10 минут	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	3,8	62	высокотоксичный
	1:100	10	8	20	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, CuSO ₄	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	4	60	высокотоксичный
	1:100	10	7,8	22	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, NH ₄ Fe(SO ₄) ₂	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	4,5	55	высокотоксичный
	1:100	10	6,7	33	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, CoCl ₆	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	3,6	64	высокотоксичный
	1:100	10	8,8	12	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, Al ₂ O ₃	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	2,9	71	высокотоксичный
	1:100	10	7,8	22	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, NiSO ₄	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	3,5	65	высокотоксичный
	1:100	10	5,5	45	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, MoO ₃	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	2,7	73	высокотоксичный
	1:100	10	6,4	46	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 20 минут	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	3,8	62	высокотоксичный
	1:100	10	7,1	29	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 15 минут	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	4,1	59	высокотоксичный
	1:100	10	6,1	39	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, цеолит	1:1	10	0	100	высокотоксичный
	1:10	10	3,9	61	высокотоксичный
	1:100	10	7,6	24	слаботоксичный
	1:1000	10	10	0	нетоксичный

По результатам биотестирования определено, что все образцы водной фазы оказывали токсическое воздействие на особи *Paramecium caudatum*. Десятикратное разведение дехлорированной водой также сопровождалось токсическим

воздействием на инфузории и приводило к гибели более 50 % особей во всех исследуемых пробах. Наиболее токсичными пробами при разбавлении в 10 раз оказались образцы водной фазы при ожигении ИИ в течение 30 минут без катализаторов (гибель, в среднем, 77 % инфузорий), наименее токсичными – образцы водной фазы ГТО осадка первичного отстойника с использованием аммонийных квасцов (гибель, в среднем, 55 % инфузорий).

При 100-кратном разведении наблюдалась гибель в среднем от 12 % (для водной фазы с использованием хлорида кобальта в качестве катализатора) до 46 % особей инфузорий по сравнению с контрольной пробой (дехлорированной водой). Разбавление исходной водной фазы в 100 раз, в целом, обусловило слаботоксичный эффект для инфузорий.

Тысячекратное разбавление водной фазы не оказывало токсического эффекта на выбранный тест-объект [176,177].

Результаты определения токсичности образцов водной фазы процесса ГТО с использованием в качестве тест-объекта рачков *Artemia salina* представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Результаты биотестирования образцов водной фазы на рачках *Artemia salina* после 48 часов экспозиции

Условия процесса	Кратность разбавления исходной водной фазы	Среднее количество выживших рачков		Смертность тест-объектов, %	Степень токсичности среды
		Контроль	Испытуемый раствор		
ИИ, стандартные, 1:20	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	5,6	71	высокотоксичный
	1:100	20	11,6	41,6	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 30 минут	1:1	20	0	0	высокотоксичный
	1:10	20	5	75	высокотоксичный
	1:100	20	13,3	33,3	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, цеолит	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	6	70	высокотоксичный
	1:100	20	14	30	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный

Продолжение таблицы 3.3

1	2	3	4	5	6
ИИ, стандартные, 1:15	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	7,6	61,6	высокотоксичный
	1:100	20	12	40	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 10 минут	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	4	80	высокотоксичный
	1:100	20	11,6	42	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, CuSO ₄	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	5	75	высокотоксичный
	1:100	20	13	35	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, NH ₄ Fe(SO ₄) ₂	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	2,6	86,6	высокотоксичный
	1:100	20	11,6	41,6	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, CoCl ₆	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	2,6	86,6	высокотоксичный
	1:100	20	11,3	43,3	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, Al ₂ O ₃	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	3	85	высокотоксичный
	1:100	20	11,3	43,3	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ОПО, стандартные, NiSO ₄	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	4	80	высокотоксичный
	1:100	20	7,3	63,3	высокотоксичный
	1:1000	20	18,3	8,5	нетоксичный
ОПО, стандартные, MoO ₃	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	2,6	86,6	высокотоксичный
	1:100	20	13,3	33,3	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 20 минут	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	3,3	83,3	высокотоксичный
	1:100	20	11,6	41,6	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, 15 минут	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	6,6	66,6	высокотоксичный
	1:100	20	11,6	41,6	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный
ИИ, стандартные, цеолит	1:1	20	0	100	высокотоксичный
	1:10	20	5	75	высокотоксичный
	1:100	20	11,3	43,3	слаботоксичный
	1:1000	20	20	0	нетоксичный

По результатам биотестирования с использованием рачков в качестве тест-объекта было отмечено, что все образцы исходной водной фазы оказывали токсичный эффект на тест-объект и приводили к гибели 100 % особей.

Разбавление в 10 раз также сопровождалось токсическим действием на науплии и смертностью особей от 61,6 % до 86,6 % при использовании в качестве сырья для оживления осадков первичных отстойников.

При стократном разбавлении было обнаружено слаботоксичное действие на тест-объекты с гибелью от 30 % до 43,3 % особей. При этом отмечено, что водная фаза процесса ГТО с использованием сульфата никеля в качестве катализатора даже при разбавлении в 100 раз оказывала на *Artemia salina* токсичный эффект: смертность, в среднем, составила 63,3 %.

Тысячекратное разбавление не оказывало токсического эффекта на исследуемый тест-объект [176,177].

Таким образом, следует отметить, что образцы водной фазы оказывают токсическое действие на оба тест-объекта и приводят к 100 % гибели как инфузорий, так и рачков. Десятикратное разбавление водной фазы не снижает токсического действия на исследованные тест-объекты. Разбавление в 100 раз определяет слаботоксичные свойства водной фазы и приводит к гибели, в среднем, 29 % *Paramecium caudatum* и 45 % *Artemia salina* по сравнению с контрольной пробой. При разбавлении водной фазы в тысячу раз была отмечена нулевая токсичность образцов водной фазы для исследуемых тест-объектов [176,177].

Далее, для выявления наиболее токсичного образца водной фазы, полученной после процесса гидротермального оживления, графическим методом было определено среднее летальное разбавление КР (50), соответствующее гибели 50 % исследованных тест-объектов. Результаты КР (50) для *Paramecium caudatum* показаны в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Кратность разбавления образцов водной фазы, вызывающих гибель 50 % особей *Paramecium caudatum*

Условия процесса	KP (50)
ИИ, стандартные, 1:20	61,5
ИИ, стандартные, 30 минут	62,4
ОПО, стандартные, цеолит	49,4
ИИ, стандартные, 1:15	44,9
ИИ, стандартные, 10 минут	52,3
ОПО, стандартные, CuSO ₄	51,7
ОПО, стандартные, NH ₄ Fe(SO ₄)	62,3
ОПО, стандартные, CoCl ₆	59,8
ОПО, стандартные, Al ₂ O ₃	57,6
ОПО, стандартные, NiSO ₄	81,7
ОПО, стандартные, MoO ₃	69,5
ИИ, стандартные, 20 минут	58,6
ИИ, стандартные, 15 минут	70,8
ИИ, стандартные, цеолит	51,2

Согласно полученным результатам с использованием тест-объекта *Paramecium caudatum* наиболее токсичным образцом по показателю KP (50) является образец водной фазы, полученной в ходе гидротермального ожижения ОПО с использованием в качестве катализатора сульфата никеля: необходимая кратность разбавления водной фазы составляла 81,7. Помимо этого образца наиболее токсичными для тест-объектов оказались пробы водной фазы, полученные с использованием в качестве катализаторов оксидов и солей металлов [178]. Высокая токсичность этих образцов, вероятно, связана с миграцией металлов в водную фазу, которые в синергии оказывают больший токсичный эффект на тест-объекты.

Результаты KP (50) для *Artemia salina* представлены в таблице 3.5.

Согласно полученным экспериментальным результатам с использованием тест-объекта *Artemia salina* наиболее токсичным образцом по показателю KP (50) является образец водной фазы с использованием сульфата никеля в качестве катализатора (необходимая кратность разбавления – 142,2), что коррелирует с результатами, полученными при биотестировании на инфузориях [177].

Таблица 3.5 – Кратность разбавления образцов водной фазы, вызывающая гибель 50 % *Artemia salina*

Условия процесса	KP (50)
ИИ, стандартные, 1:20	80,3
ИИ, стандартные, 30 минут	69,6
ОПО, стандартные, цеолит	64,7
ИИ, стандартные, 1:15	74,3
ИИ, стандартные, 10 минут	80,1
ОПО, стандартные, CuSO ₄	72
ОПО, стандартные, NH ₄ Fe(SO ₄)	83,4
ОПО, стандартные, CoCl ₆	91,2
ОПО, стандартные, Al ₂ O ₃	86,3
ОПО, стандартные, NiSO ₄	142,2
ОПО, стандартные, MoO ₃	73,4
ИИ, стандартные, 20 минут	83,4
ИИ, стандартные, 15 минут	80,7
ИИ, стандартные, цеолит	84,1

Менее токсичными как для науплий рачков, так и для инфузорий оказались образцы водной фазы, полученной при ожижении биомассы избыточного ила без применения катализаторов, что, вероятно, связано с меньшей концентрацией ионов тяжелых металлов, используемых в качестве катализаторов для процесса гидротермального ожижения.

3.3 Качественный состав водной фазы процесса гидротермального ожижения избыточного ила и осадков первичных отстойников

Для оценки качественного состава некоторых образцов водной фазы использовали методы ЯМР-спектроскопии и газовую хроматографию с масс-спектрометром.

В таблицах 3.6 и 3.7 показаны основные группы химических соединений, идентифицируемых в водной фазе с помощью ЯМР-спектроскопии и газовой хроматографией соответственно.

Таблица 3.6 – Основные группы органических соединений (% от массы) водной фазы процесса ГТО на основе ЯМР-спектроскопии ^1H анализ

Условия, сырье	-CHO	Ароматические углеводороды, алкины	R-OH, -CH ₂ -O-R	R-CH ₂ -O-R	R-CH ₂ -CH=O	Алифатические углеводороды
DMSO						
ОПО, стандартные CuSO ₄	4,22	27,77	3,01	16,15	16,81	32,04
ОПО, стандартные NiSO ₄	4,12	23,89	4,39	14,1	16,32	37,18
ИИ, стандартные цеолит	0,21	26,42	3,00	18,6	13,07	38,7
ИИ, стандартные 20 минут	0,75	34,44	4,28	15,23	14,66	30,64
D ₂ O						
ОПО, стандартные CuSO ₄	1,31	12,88	29,15	3,96	17,42	35,28
ОПО, стандартные NiSO ₄	2,80	22,72	8,23	24,53	15,2	26,52
ИИ, стандартные цеолит	2,41	13,15	1,02	27,91	22,67	32,84
ИИ, стандартные 20 минут	2,02	8,03	0,2	39,75	22,58	27,42

С использованием в качестве растворителя DMSO показано, что в образцах водной фазы процесса ГТО преобладает углерод в структуре алифатических цепей (34,05-41,82 %), затем следует углерод в составе карбоксильных групп и ароматических соединений (26,42-34,3 %). На основании полученных результатов можно предположить, что основными компонентами водной фазы процесса гидротермального ожигения являются карбоновые кислоты с различной длиной углеродной цепи и их производные. Помимо алифатических углеродов, весомую долю занимают ароматические соединения; вероятно, это может быть фенол и его производные. Содержание альдегидов, кетонов и лигнина составляет менее 8 %.

Для уточнения качественного состава водной фазы процесса гидротермального ожижения избыточного активного ила использовали метод газовой хроматографии таблица 3.7.

Таблица 3.7 – Основные органические вещества, содержащиеся в водной фазе после гидротермального ожижения

Компонент	Время выхода, мин	Площадь, мВ·с	% от массы
Уксусная кислота	2,51	63249	43,73
Бутановая кислота	3,69	9906	6,85
Изобутановая кислота	4,41	5757	3,98
Пентановая кислота	5,02	4590	3,1
4-метилфенил бензамид	16,21	1323	0,91
Пиридин	16,27	1549	1,07
Фенол	16,51	44143	30,52
4-пиридинуксусная кислота	30,90	2468	1,70
Декановая кислота	31,44	11621	8,06

По результатам анализа данных газовой хроматографии с использованием масс-спектроскопического детектора в образце водной фазы, полученной в процессе ожижения ИИ в стандартных условиях в течение 20 минут, были обнаружены представители различных классов органических соединений, в частности, карбоновые кислоты с различной длиной углеродной цепи (C₂–C₁₀) и их изомеры (бутановая, пентановая, изобутановая и декановая кислота)

В составе образцов также присутствуют ароматические соединения (фенолы и его производные) и гетероциклические азотосодержащие вещества (4-метилфенилбензамид, пиридин).

Полученные результаты газовой хроматографии коррелируют с результатами анализа водной фазы с помощи ЯМР-спектроскопии. По расчетам площади пиков большую часть органических соединений составляют карбоновые кислоты и ароматические соединения, а также их производные; меньшую долю примесей в составе водной фазы занимают

гетероциклические азотосодержащие органические соединения (амиды и их производные).

3.4 Выводы по главе 3

Результаты проведенных физико-химических анализов образцов водной фазы гидротермального ожигения осадков первичных отстойников и избыточного активного ила подтверждают литературные данные о том, что в водной фазе содержится большое количество водорастворимых органических соединений, которые необходимо предварительно удалять перед сбросом на очистку в системы централизованного водоотведения или/и в природные водоемы [179].

Исходя из анализа компонентов водной фазы, можно сделать вывод что большинство соединений, входящих в ее состав, способны эффективно подвергаться биологической деструкции (карбоновые кислоты, фенол и его производные) [180,181].

Для дальнейших экспериментальных исследований по обезвреживанию водной фазы необходимо получить адаптированные микроорганизмы, способные использовать карбоновые кислоты и ароматические соединения в качестве субстрата, тем самым снижая токсичный эффект водной фазы. С целью получения изолятов таких культур в качестве их потенциального источника был выбран активный ил нефтехимического предприятия ПАО «Нижнекамскнефтехим», в сточных водах которого содержатся как карбоновые кислоты, так и различные ароматические соединения.

ГЛАВА 4. АЭРОБНОЕ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ВОДНОЙ ФАЗЫ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ ИЗБЫТОЧНОГО АКТИВНОГО ИЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ- ДЕСТРУКТОРОВ

Из активного ила нефтехимического предприятия ПАО «Нижнекамскнефтехим» с использованием в качестве питательной среды водной фазы, полученной в результате гидротермального ожигения избыточного активного ила (см. раздел «Объекты и методы исследования»), было выделено 11 микробных изолятов, которые были пронумерованы в ряду S1–S11.

4.1 Оценка морфологических и физиолого-биохимических свойств, полученных изолятов

На рисунке 4.1 показаны микрофотографии полученных изолятов.

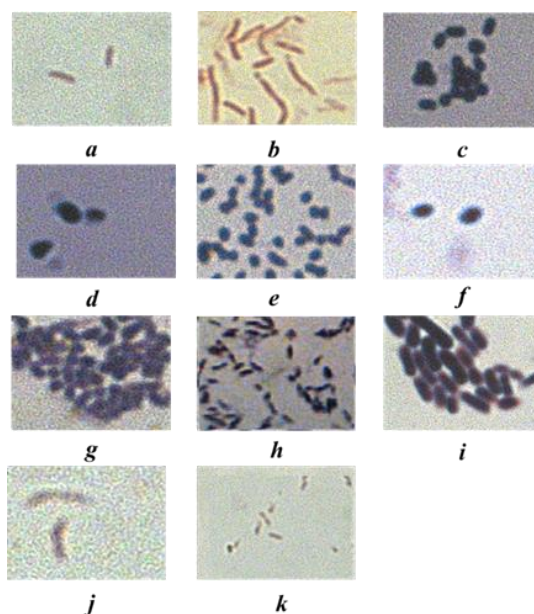


Рисунок 4.1 – Микрофотографии полученных изолятов (увеличение $\times 1000$): a – S1; b – S2; c – S3; d – S4; e – S5; f – S6; g – S7; h – S8; i – S9; j – S10; k – S11

Клетки изолятов S1, S10, S11 являлись грамотрицательными палочками размером от 3,5 до 4 мкм расположенные одиночно; S2 – крупные грамотрицательные извитые бактерии с закругленными концами размером от 5,3 до 6 мкм; изоляты S3, S5, S7 – грамположительные кокки, расположенные гроздьями с размером клеток от 1,86 до 2 мкм; клетки S4, S6 представляли собой грамположительные кокки диаметром ≈ 2 мкм, расположенные одиночно; S8 – грамположительные палочки средней длиной от 3,5 до 4,1 мкм, расположенные попарно; S9 – крупные грамположительные палочки, длина которых составляет 8 мкм, с ровными концами [182,183].

Для оценки физиолого–биохимических свойств полученных культур был проведен ряд тестов на их способность использовать спирты и углеводы в качестве единственного источника углерода, а также к ассимиляции аммонийного и нитратного азота и на наличие гидролитических ферментов. Проведенные исследования полученных штаммов позволили выявить их особенности (таблица 4.1).

Таблица 4.1 – Биохимические свойства исследуемых штаммов

Показатель	Штаммы										
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
Утилизация субстрата											
D-Манноза	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–
D-Глюкоза	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	–
D-Сахароза	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–
D-Фруктоза	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	+
D-Мальтоза	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–
D-Галактоза	–	–	–	+	–	+	+	+	+	–	–
D-Лактоза	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
D-Арабиноза	+	+	–	–	+	+	–	–	–	–	–
D-Ксилоза	–	–	–	–	+	+	–	–	+	+	+
Крахмал	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	+
Этиленгликоль	–	–	–	–	–	–	+	–	+	–	–
Глицерин	–	+	–	–	–	–	+	–	+	–	–
Этанол	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
Активность фермента											
Липаза	–	–	+	+	–	+	–	+	+	–	–
Уреаза	+	–	–	–	–	+	+	–	–	+	+
Протеаза	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–

Продолжение таблицы 4.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Каталаза	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
Амилолитические ферменты	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	+
Липаза	–	–	+	+	–	+	–	+	+	–	–
Уреаза	+	–	–	–	–	+	+	–	–	+	+
Протеаза	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–
Каталаза	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
Амилолитические ферменты	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	+
Способность к ассимиляции различных форм азота											
NH_4^+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	+	+
NO_3^-	–	–	+	+	–	+	–	+	+	–	–
+ – Положительная реакция – – Отрицательная реакция											

Практически все исследуемые культуры способны использовать глюкозу, фруктозу и этанол как единственные источники углерода; исключение составляют штаммы S5 и S11, не использующие глюкозу, а также S3, S10, неспособные усваивать фруктозу, и S1, S10, не усваивающие этанол.

Были отмечены изоляты S7, S8, S9, которые используют разнообразные субстраты в качестве единственного источника органического углерода, за исключением мальтозы и лактозы. На лактозе росли только изоляты S1 и S6.

Только два исследуемых штамма (S7 и S9) могли использовать трехатомный спирт глицерин для поддержания своей жизнедеятельности.

Штаммы S7, S8, S9, S11 обладали амилолитическими ферментами и показали хороший рост на крахмале.

По результатам исследования ферментативной активности большинство исследуемых культур были каталазоположительные, за исключением S1 и S10, для которых не было отмечено активности каталаз. Липолитическая активность наблюдалась только у изолятов S3, S4, S6, S7 и S9. Гидролиз мочевины осуществляли культуры S1, S6, S7, S10, S11: это определялось качественно по изменению цвета лакмусовой бумаги в пробирке с питательной средой. Протеолитической активностью по отношению к казеину обладали 3 исследуемые культуры: S4 (зона гидролиза 1 мм), S5 (зона

гидролиза 0.5 мм), S9 (зона гидролиза 0,9 мм). Также было показано, что штаммы S7–S9 и S11 обладают амилолитической активностью.

Изоляты S1, S6, S7 и S10, S11 обладают способностью использовать NH_4^+ для своего роста и развития, но не способны ассимилировать азот нитратов (за исключением культуры S6). Обратная картина наблюдалась при изучении штаммов S3, S4, S8, S9: исследуемые культуры могут использовать NO_3^- в качестве единственного источника азота, но у них отсутствует способность ассимилировать азот аммония. Также было отмечено, что изоляты S2, S5 способны усваивать только органический азот в аминной форме [183].

После получения чистых культур микроорганизмов-деструкторов и оценки их физиолого-биохимических свойств была проведена серия экспериментов по обезвреживанию водной фазы в процессе периодического культивирования с целью отбора перспективных изолятов для их дальнейшей идентификации с использованием молекулярно-генетических методов.

4.2 Периодическое культивирование изолятов на водной фазе гидротермального ожижения избыточной биомассы активного ила

Первоначально для определения концентрации водной фазы при которой будет наблюдаться рост исследуемых культур, было проведено разбавления водной фазы.

Водную фазу разбавляли дистиллированной водой 3, 5 и в 10 раз до значений ХПК мгО/дм³: 3729 ± 123 ; 2154 ± 98 ; 1201 ± 53 соответственно. К водной фазе добавляли микробиологический агар-агар, среду стерилизовали в течение 20 минут при 121 °С, после стерильно разливали в чашки Петри. Засевали полученные изоляты и культивировали в течение 48 ч в термостате при температуре 37 °С. Результаты роста культур при различной концентрации водной фазы представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Рост исследуемых культур на водной фазе гидротермального ожижения биомассы активного ила

Разведение	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
Без разведения	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
1:3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
1:5	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	+
1:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+ – Рост наблюдался											
– – Рост отсутствовал											

Согласно данным, из таблицы 4.2 следует сделать вывод, что исследуемые изоляты хорошо росли только при разбавлении исходного образца водной фазы в 10 раз с ХПК ≈ 1200 мг/дм³. Незначительный рост был отмечен для культур S7 и S11 при пятикратном разбавлении исходной водной фазы. Очевидно, что из-за высокой концентрации органических веществ и наличия токсичных соединений (ароматических соединений, гетероциклических азотосодержащих веществ) происходит подавление роста бактерий в среде без разбавления.

В дальнейшем периодическое культивирование изолятов проводили на образцах полученной водной фазы, разбавленной в 10 раз.

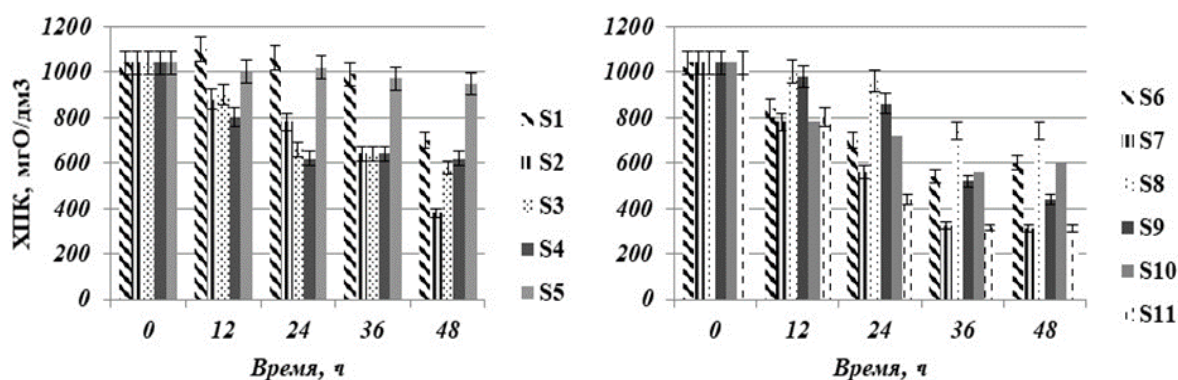


Рисунок 4.2 – Кинетика изменения значений ХПК в процессе периодического культивирования исследуемых изолятов

Согласно полученным результатам, представленным на рисунке 4.2, наиболее активными изолятами, способными активно потреблять компоненты

водной фазы, являлись S2, S7 и S11. Степень биодеструкции с их участием составляла 69%, 73 и 75% от начального значения ХПК, соответственно. При использовании изолятов S4, S6, S8 и S9 для биодеструкции компонентов водной фазы эффективность процесса оказалась меньшей, и она варьировала от 49 до 62 % по истечении 48 ч культивирования. Наименьшую активность продемонстрировали культуры S1, S3, S5 и S10 их эффективность была на уровне от 24 (для S5) до 42 % (для S3) от начального значения ХПК [183-186].

Как следует из рисунка 4.3, в первые 10–12 ч для всех исследуемых изолятов отмечена лаг-фаза: клетки адаптировались к исходному субстрату, и снижение значений ХПК в этой фазе было крайне низким (рисунок 4.2). Максимальное потребление субстрата (по ХПК) изолятами S6, S7, S8, S9, S10, S11 относится к 12–24 ч культивирования. Согласно данным рисунка 4.2 культура S2 начала активно минерализовать органические соединения в период с 24 по 48 час культивирования [183-185].

При переходе большинства микробных культур в стационарную фазу роста в период с 36 по 48 час культивирования активность бактерий снижалась, что сопровождалось незначительным снижением ХПК. Отмечено, что изменение значений ХПК коррелирует с изменением оптической плотности изучаемых культур (рисунок 4.2, 4.3).

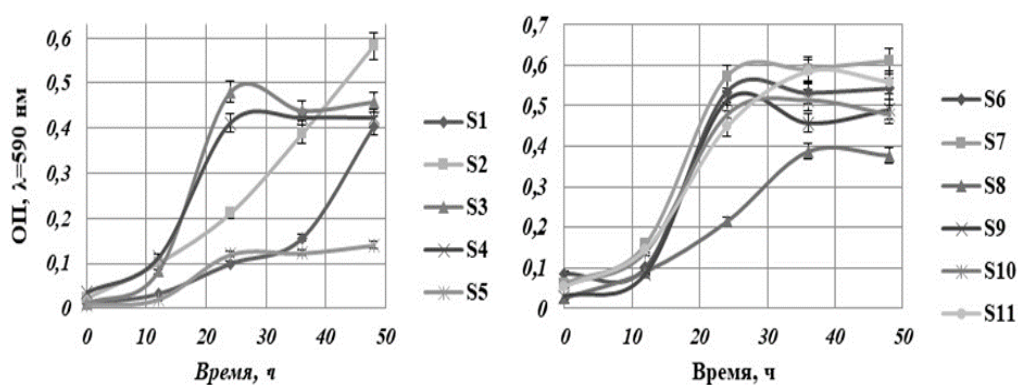


Рисунок 4.3 – Изменение оптической плотности исследуемых культур в процессе периодического культивирования

Таким образом, в ходе периодического культивирования в течение 48 часов практически все культуры вышли на стационарную фазу роста, за исключением изолятов S1, S2, S3, S5. При этом следует отметить, что изолят S2 в период с 12 по 48 час находился в экспоненциальной фазе роста и далее обозначил стационарную фазу роста, в то время как для остальных изолятов в интервале с 0 по 12 час культивирования была отмечена лаг-фаза, с 12 по 24 час экспоненциальная фаза и наиболее активное потребление субстрата. Стационарная фаза отмечалась в интервале с 24 по 48 час культивирования [183-185].

Изоляты S1, S2 и S5 показали низкую эффективность потребления субстрата и незначительный прирост биомассы.

Таким образом, по совокупности полученных результатов следует отметить в качестве активных биодеструкторов компонентов водной фазы изоляты S2, S7, и S11. Эти культуры обеспечивали лучший прирост по сравнению с другими изученными штаммами, эффективнее обезвреживали компоненты водной фазы и их эффективность по показателю ХПК составила 69, 73, 75 % соответственно [183].

Следующий этап состоял в молекулярно-генетической идентификации выявленных перспективных изолятов.

4.3 Молекулярно-генетическая идентификация микроорганизмов-деструкторов

На основании секвенирования последовательностей 16S рРНК микробных изолятов: S2, S7 и S11 были получены последовательности, состоящие из 1537, 1466 и 1724 нуклеотидов, соответственно. Полученные нуклеотидные последовательности представлены в приложении А.

Согласно нуклеотидной последовательности изолят S2 имеет наибольший уровень сходства с *Pseudomonas glycinae* (99,54 %); тогда как штаммы S7 и S11 близки к *Paenarthrobacter nicotinovorans* (99,8 %) и *Comamonas testosteroni* (99,77 %), соответственно [186].

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas glyciniae strain M5586.16S ribosomal RNA, complete sequence	Pseudomonas glyciniae	2769	2769	100%	0.0	99.54%	1537	NR_173889.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas glyciniae strain M5586 chromosome, complete genome	Pseudomonas glyciniae	2769	14024	100%	0.0	99.54%	6396728	CP014205.2
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas glyciniae strain M5586.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pseudomonas glyciniae	2769	2769	100%	0.0	99.54%	1547	MG692779.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas fluorescens strain DR397 chromosome, complete genome	Pseudomonas fluorescens	2769	16615	100%	0.0	99.54%	6418441	CP048408.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas sp. DR 5-09 chromosome, complete genome	Pseudomonas sp. DR 5-09	2769	16609	100%	0.0	99.54%	6427864	CP011506.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas fluorescens strain NEP1 genome	Pseudomonas fluorescens	2769	2875	100%	0.0	99.54%	6313875	CP022131.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas fluorescens strain FH.SM chromosome, complete genome	Pseudomonas fluorescens	2769	16615	100%	0.0	99.54%	6337385	CP128200.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas kribbensis strain TMH.L1 chromosome, complete genome	Pseudomonas kribbensis	2763	16565	100%	0.0	99.47%	6295266	CP193787.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas sp. IzPS59 chromosome, complete genome	Pseudomonas sp. IzPS59	2763	16565	100%	0.0	99.47%	6381635	CP062251.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas kribbensis strain XP1.4 chromosome, complete genome	Pseudomonas kribbensis	2763	16560	100%	0.0	99.47%	6400911	CP116235.1
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter nicotinovorans strain DSM 420.16S ribosomal RNA, partial sequence	Paenarthrobacter nicotinovorans	2691	2691	100%	0.0	99.80%	1468	NR_026194.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter nicotinovorans strain HTL09-21-om.16S ribosomal RNA gene, partial sequ...	Paenarthrobacter nicotinovorans	2691	2691	100%	0.0	99.80%	1468	GM532700.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter sp. Y.13 chromosome, complete genome	Paenarthrobacter sp. Y.13	2682	13373	100%	0.0	99.66%	4583909	CP119414.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter sp. C1 chromosome, complete genome	Paenarthrobacter sp. C1	2678	15922	100%	0.0	99.59%	4697865	CP186052.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter nicotinovorans strain ART1 chromosome, complete genome	Paenarthrobacter nicotinovorans	2678	16052	100%	0.0	99.59%	4529173	CP158933.1
<input checked="" type="checkbox"/> Arthrobacter sp. DualSolC13.DNA, complete genome	Arthrobacter sp. DualSolC13	2678	16072	100%	0.0	99.59%	4751854	AP060468.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter halidolovorans strain M9	Paenarthrobacter halidolovor...	2678	16072	100%	0.0	99.59%	4577594	CP200316.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter sp. Y.JN-D chromosome, complete genome	Paenarthrobacter sp. Y.JN-D	2678	13393	100%	0.0	99.59%	4334173	CP053549.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter nicotinovorans strain nic. chromosome, complete genome	Paenarthrobacter nicotinovorans	2678	16072	100%	0.0	99.59%	4323902	CP089015.1
<input checked="" type="checkbox"/> Paenarthrobacter nicotinovorans strain F.115 chromosome, complete genome	Paenarthrobacter nicotinovorans	2678	16072	100%	0.0	99.59%	4376624	CP192529.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni TK102, complete genome	Comamonas testosteroni TK102	1594	28351	100%	0.0	99.77%	6062703	CP006704.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni strain DSMZ 14576 chromosome, complete genome	Comamonas testosteroni	1594	22068	100%	0.0	99.77%	6012993	CP140157.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni strain NCIMB 10643.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Comamonas testosteroni	1594	3152	100%	0.0	99.77%	1452	AY247415.1
<input checked="" type="checkbox"/> Uncultured Comamonas sp. clone kua132.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured Comamonas sp.	1594	2495	79%	0.0	99.77%	1100	HM1502298.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni strain boo06.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Comamonas testosteroni	1594	3152	100%	0.0	99.77%	1459	KM227791.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni partial.16S rRNA gene, isolate SB3	Comamonas testosteroni	1594	3152	100%	0.0	99.77%	1455	AJ606335.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni JCM.13048 gene for.16S.rRNA, partial sequence	Comamonas testosteroni	1594	3152	100%	0.0	99.77%	1455	LC507845.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni strain CPO.16.45.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Comamonas testosteroni	1594	3152	100%	0.0	99.77%	1453	CM280105.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni gene for.16S.rRNA, partial sequence, strain JCM.6231	Comamonas testosteroni	1594	3152	100%	0.0	99.77%	1455	LC379092.1
<input checked="" type="checkbox"/> Comamonas testosteroni JCM.13048 gene for.16S.rRNA, partial sequence	Comamonas testosteroni	1594	3152	100%	0.0	99.77%	1455	LC507846.1

Рисунок 4.4 – Результаты идентификации нуклеотидной последовательности изолятов S2, S7, S11 в программе BLAST

В литературе встречаются данные о том, что бактерии рода *Paenarthrobacter*, в частности, *Paenarthrobacter nicotinovorans* способны расщеплять атразин, никотин и другие гетероциклическое азотосодержащие соединения [187], а бактерии *Comamonas testosteroni* могут использовать большой спектр ароматических соединений в качестве источника углерода, метаболизируя их до карбоновых кислот, которые потом преобразуются в цикле Кребса [188,189].

Таким образом, следует отметить, что полученные культуры являются перспективными для деструкции компонентов водной фазы, которая содержит в своем составе различные типы ароматических соединений и гетероциклических азотосодержащих веществ.

4.4 Оценка способности бактерий к формированию биопленки на водной фазе процесса гидротермального ожигения избыточного активного ила

Для обезвреживания высококонцентрированных сточных вод, содержащих в своем составе трудноокисляемые соединения, в основном применяют иммобилизованную биомассу на различных носителях.

Сообщество биопленки более устойчиво к токсичным соединениям и залповым сбросам [190]. В ряде работ было отмечено, что сочетание процессов адсорбции и биологического окисления для удаления поллютантов из сточной воды является более эффективным, чем применение этих процессов в отдельности [191]. В результате образования бактериальной пленки на поверхности сорбентов происходит одновременная адсорбция загрязняющих веществ и их биоокисление в биопленке до CO_2 и H_2O без блокирования пор адсорбента [191]. Так, изучен процесс очистки сточных вод животноводческого комплекса с использованием природного цеолита с биопленкой на его поверхности, результаты исследования которого показали, что эффективность сочетания процесса адсорбции с биологической деструкцией органических веществ составила 99,27 % по сравнению с процессом сорбции – 79,88 % [192].

Для использования процесса биосорбции с целью повышения эффективности обезвреживания компонентов водной фазы представлялось необходимым экспериментально оценить способность бактериальных культур к формированию биопленок в процессе их культивирования на водной фазе ГТО и получить результаты по сорбционной емкости изучаемых адсорбентов.

Первоначально требовалось определить содержание водной фазы в среде, при которой изучаемые культуры будут формировать наиболее плотную, развитую биопленку как в монокультурах, так и в бинарных системах. Для этого была оценена способность бактерий к формированию биопленок на среде с различным содержанием водной фазы.

Результаты образования биопленок монокультурами представлены на рисунке 4.5.

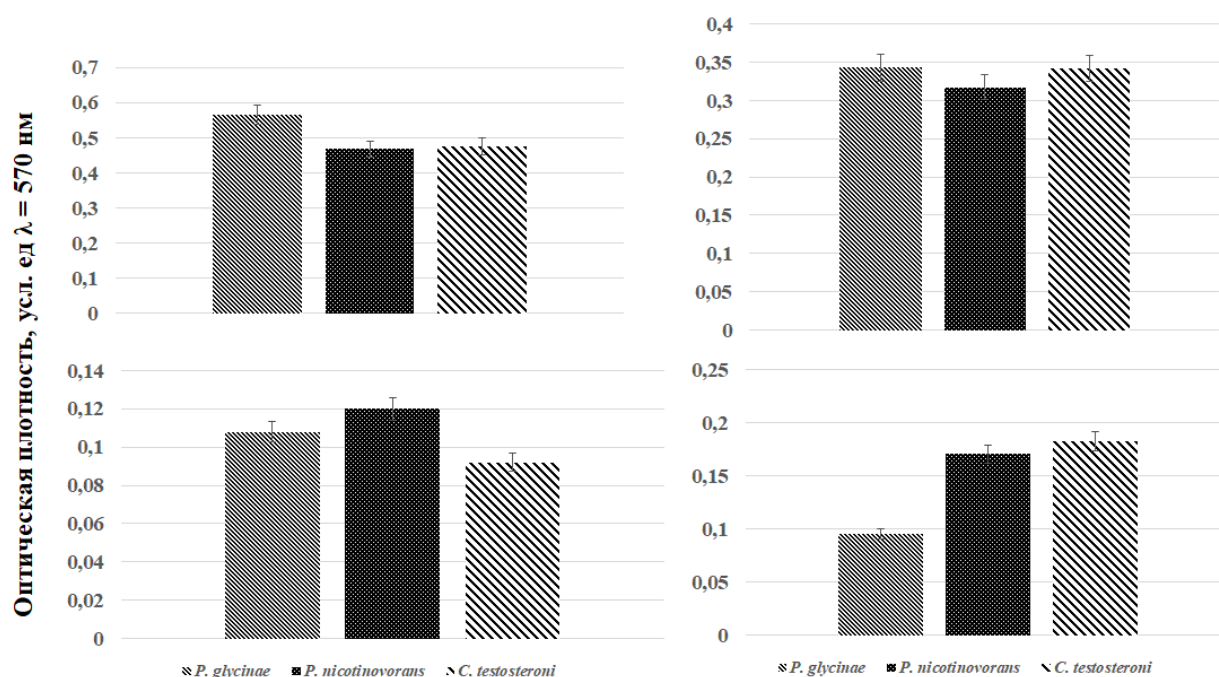


Рисунок 4.5 – Формирование биопленок на среде с различным содержанием водной фазы гидротермального ожижения избыточного активного ила: А – 10 %; Б – 20 %; В – 33 %; Г – 50 %

Экспериментально было показано, что способность бактерий формировать биопленку в монокультурах зависит от содержания водной фазы в растворе.

Наиболее плотную биопленку при содержании водной фазы 10 % формировала культура *P. glycinea*, однако, по мере увеличения содержания водной фазы ее способность к образованию биопленки снижалась (от $0,559 \pm 0,041$ усл.ед при 10 % водной фазы до $0,099 \pm 0,011$ при 50 % водной фазы).

Схожая ситуация наблюдалась у культур *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni*: максимальное биопленкообразование наблюдалось при содержании водной фазы 10 % ($0,497$ и $0,501$ ед., соответственно). Однако, по сравнению с *P. glycinea* эти культуры формировали более массивную

био пленку при содержании водной фазы 50 %, в среднем на 58 и 60 %, соответственно. Следует предположить, что эти культуры наиболее адаптированы к большим концентрациям компонентов водной фазы, нежели культура псевдомонад [193-195].

Следующий этап заключался в проведении совместного культивирования культур микроорганизмов и оценке их способности к образованию био пленок. Результаты, полученные в ходе совместного культивирования в условиях бинарных культур, представлены на рисунке 4.6.

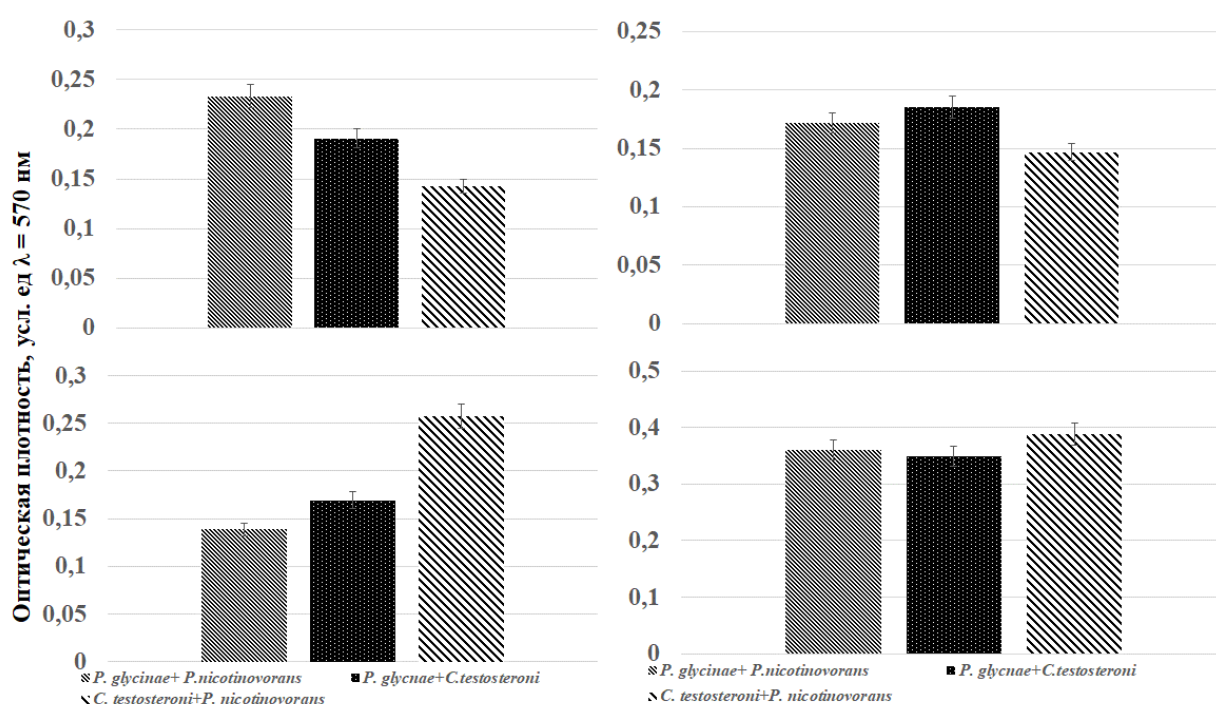


Рисунок 4.6 – Образование био пленок бинарными культурами на средах с различным содержанием водной фазы гидротермального ожигения избыточного активного ила: А – 10 %; Б – 20 %; В – 33 %; Г – 50 %

Следует отметить, что при совместном культивировании двух бактериальных культур на среде с высоким содержанием водной фазы формировалась более развитая био пленка по сравнению с био пленкой монокультур (на 33-50 % более массивная по сравнению с био пленкой монокультур).

При содержании водной фазы 33 % более массивную биопленку формировали бактерии *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* количество экстрагированного красителя составило 0,261 усл. ед по сравнению с монокультурами (0,120 и 0,098 усл. ед., соответственно). Наиболее развитую биопленку формировали бинарные культуры *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* при содержании водной фазы в 50 % (0,394 усл.ед), что в 1,2 раза превышает массивность биопленки монокультуры *C. testosteroni* при той же концентрации водной фазы [193].

Высокую способность образовывать биопленку при совместном культивировании различных культур бактерий можно объяснить тем, что эти культуры проявляют синергизм и в бинарных культурах являются более устойчивыми к токсичным компонентам водной фазы, либо тем обстоятельством, что могут подавлять друг друга, и в ответ на стресс способны продуцировать большее количество полисахаридного матрикса для защиты от бактериальных токсинов.

Для подтверждения гипотезы или ее опровержения был проведен посев бактерий перпендикулярным штрихом для определения способности исследуемых микроорганизмов проявлять антагонистическую активность по отношению друг к другу рисунок 4.7 [196].

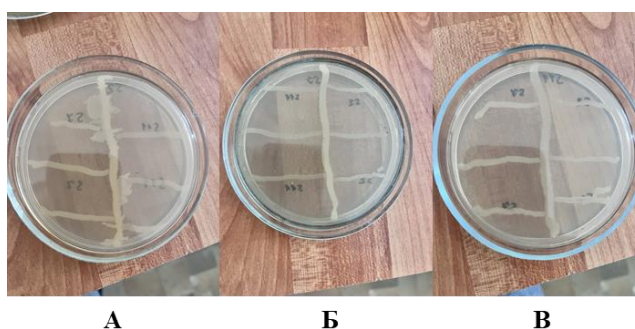


Рисунок 4.7 – Определение антагонистической активности изолятов: А: изолят S2 (*P. glescyanea*); Б: изолят S7 (*P. nicotinovorans*); изолят S11 (*C. testosteroni*)

В ходе посева микроорганизмов перпендикулярным штрихом было выявлено, что исследуемые культуры не подавляют друг друга в процессе роста и развития, в связи с чем можно сделать вывод об их синергизме по отношению к токсичным компонентам водной фазы [193].

С учетом того, что культуры *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* формировали более развитую биопленку, используя в качестве субстрата компоненты водной фазы, по сравнению с *P. glycinea*, они были выбраны для дальнейших экспериментов по культивированию в присутствии сорбционных материалов.

4.5 Адсорбция компонентов водной фазы с использованием адсорбентов

Поскольку водная фаза процесса ГТО содержит большой перечень органических и неорганических соединений, затрудняющих процессы биологической очистки, в настоящее время ряд исследований посвящены предварительной сорбционной очистке водной фазы процесса ГТО [40].

В ряде работ было показано [65,110,197], что цеолиты и активированный уголь эффективно сорбируют компоненты водной фазы, которые ингибируют рост аэробных и анаэробных бактерий при дальнейшей биологической обработке воды.

В настоящей работе первоначально были изучены закономерности процесса адсорбции модельных растворов фенола как основного органического загрязнителя и NH_4^+ как неорганического поллютанта с построением изотерм сорбции и расчета по ним коэффициентов уравнений. В качестве сорбентов использовались цеолит и сорбентом, полученным из активного ила (см. главу 2).

Изотермы адсорбции фенола исследованными сорбентами из модельных растворов представлены на рисунке 4.8.

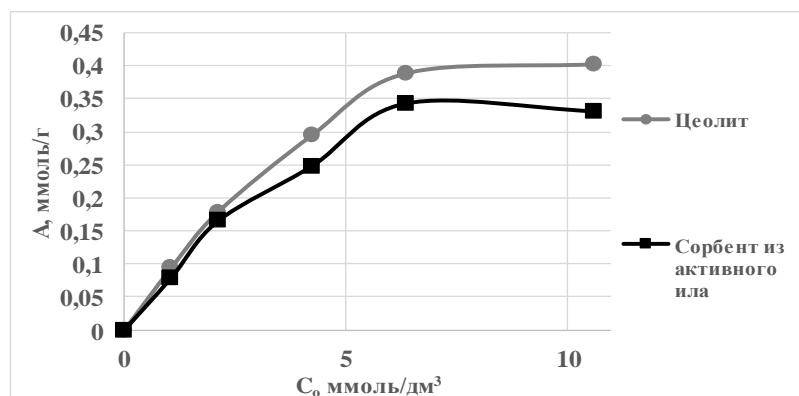


Рисунок 4.8 – Изотермы адсорбции фенола цеолитом и сорбентом, полученным из активного ила

Из рисунка 4.8 видно, что цеолит показал себя эффективнее в отношении сорбции фенола, нежели сорбент, полученный из активного ила. Максимальная сорбционная емкость для цеолита по фенолу составляла 0,41 ммоль на 1 г сорбента, что на 14 % больше максимальной способности адсорбции сорбента, полученного низкотемпературным пиролизом активного ила [198]. Следует отметить, что невысокая способность к сорбции органических соединений, вероятно, связана характером поверхности сорбентов (малой пористостью и специфическим зарядом поверхности) по сравнению с высокоэффективными сорбентами, такими как активированный уголь [198]. На рисунке 4.9 показаны изотермы адсорбции изучаемых сорбентов для NH_4^+ .

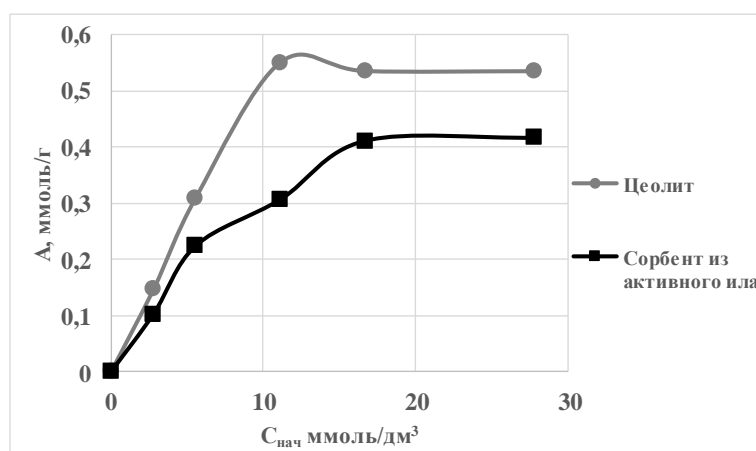


Рисунок 4.9 – Изотермы адсорбции NH_4^+ цеолитом и сорбентом, полученным из активного ила

Как и в случае адсорбции фенола, для NH_4^+ цеолит показал себя более эффективным адсорбентом по сравнению с сорбентом, полученным из активного ила. Максимальная сорбционная емкость для цеолита по NH_4^+ составляла 0,56 ммоль/г, для сорбента из ила – 0,41 ммоль/г [198].

Удовлетворительная способность к сорбции цеолитом NH_4^+ обусловлена, вероятно, ионообменным механизмом адсорбции, характерным для подобных материалов, наличием катионообменной емкости с неорганическими соединениями [199].

По результатам исследований следует сделать вывод, что для увеличения сорбционной емкости необходимо использовать другие методы модификации: термический; использование щелочи; либо сочетание химических и термических способов [200].

Следующий этап работы заключался в изучении закономерностей процесса адсорбции и его описания с использованием различных моделей адсорбции и расчётом коэффициентов корреляции уравнений адсорбции.

В таблице 4.3 показаны результаты расчета коэффициентов изотерм адсорбции фенола и NH_4^+ с применением пакета прикладных программ Excel.

Таблица 4.3 – Коэффициенты изотерм адсорбции фенола и NH_4^+ цеолитом и сорбентом, полученным из активного ила

Модель изотермы	Коэффициенты	Цеолит		Сорбент активного из ила	
		фенол	NH_4^+	фенол	NH_4^+
Ленгмюра	Q_0 , (ммоль/г)	0,41	0,96	0,46	0,88
	b (дм ³ /ммоль)	2,54	0,14	0,83	0,08
	R^2	0,99	0,95	0,94	0,97
Фрейндлиха	n	2,67	2,29	2,39	1,90
	K_F (ммоль/г)/(ммоль/дм ³) ⁿ	0,24	0,17	0,17	0,09
	R^2	0,93	0,75	0,85	0,88
Дубинина-Радушкевича	β	0,04	0,68	0,09	1,08
	X_m ммоль/г	0,36	0,55	0,32	0,38
	R^2	0,94	0,98	0,97	0,96

Полученные результаты показали, в частности, что максимальная теоретическая сорбционная емкость цеолита по отношению к фенолу и NH_4^+ , определенная по уравнению Ленгмюра, оказалась равной 0,41 и 0,96 ммоль/г, соответственно, в то время как экспериментально полученная сорбционная емкость равна 0,41 и 0,56 ммоль/г, соответственно (рисунки 4.8 и 4.9) [198].

Наиболее достоверной моделью для описания адсорбции фенола на исследованных сорбентах на цеолите является модель Ленгмюра (коэффициент корреляции $R^2 = 0,99$), для NH_4^+ – модель Дубинина-Радушкевича ($R^2 = 0,94$). В целом, по адекватности описания изотермы сорбции фенола цеолитом расположились в следующий ряд: Ленгмюра > Дубинина-Радушкевича > Фрейндлиха, для NH_4^+ : Дубинина-Радушкевича > Ленгмюра > Фрейндлиха.

Показано, что модель Дубинина-Радушкевича оказалась наиболее достоверной для описания кинетики сорбции фенола и NH_4^+ , сорбентом, полученным из активного ила. По адекватности описания изотермы адсорбции фенола сорбентом из активного ила расположились в следующем порядке: Дубинина Радушкевича > Ленгмюра > Фрейндлиха, для NH_4^+ : Дубинина Радушкевича > Ленгмюра > Фрейндлиха.

Следует отметить, что модели Ленгмюра и Фрейндлиха, широко применяемые для описания сорбционных процессов, тем не менее, не дают достаточной информации о деталях механизма адсорбции. Для определения типа и механизма адсорбции применяют модель Дубинина-Радушкевича.

Изотерма Дубинина-Радушкевича не предполагает однородной поверхности сорбента и постоянства адсорбционного потенциала и используется для определения типа адсорбции - физической или химической в изучаемом процессе [198].

Для определения типа сорбции по уравнению Дубинина-Радушкевича была рассчитана энергия адсорбции. Считается, что если значение величины E лежит между 8 и 16 кДж/моль, то адсорбционный процесс протекает по

хемосорбционному механизму; если же значение E меньше 8 кДж/моль, то процесс адсорбции носит физический характер.

Значения энергии сорбции (E) и энергии Гиббса (ΔG) представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Энергии Гиббса и сорбции фенола и ионов NH_4^+ цеолитом и сорбентом, полученным из активного ила

Параметры	Цеолит		Сорбент активного из ила	
	Фенол	NH_4^+	Фенол	NH_4^+
ΔG (кДж/моль)	-2,30	4,87	0,46	6,19
E (кДж/моль)	3,23	0,85	2,29	0,68

Полученные значения энергии сорбции для всех изучаемых сорбентов показали, что сорбция фенола и NH_4^+ для цеолита и сорбента, полученного из активного ила, протекает по физическому механизму. Отрицательное значение энергии Гиббса (-2,30 кДж/моль) для сорбции фенола цеолитом свидетельствует о самопроизвольном процессе протекания адсорбции [201].

Целью дальнейших экспериментов было исследование процесса адсорбции компонентов водной фазы, полученной в результате гидротермального ожигения избыточного активного ила.

Как было показано в главе 3, водная фаза богата органическими соединениями, такими как карбоновые кислоты, фенолы их производные, гетероциклические азотсодержащие соединения в большом количестве в ней содержатся и неорганические вещества (соли, NH_4^+ , PO_4^{3-} и др.).

При оценке сорбционной емкости исследуемых сорбентов водную фазу разбавляли в 20, 10, 5, 3 раза; доза вносимого сорбента составляла 10 г/дм³. Экспериментальные результаты максимальной удельной адсорбции органических веществ, NH_4^+ , PO_4^{3-} из образцов водной фазы с вышеуказанной кратностью разбавления представлены на рисунке 4.10.

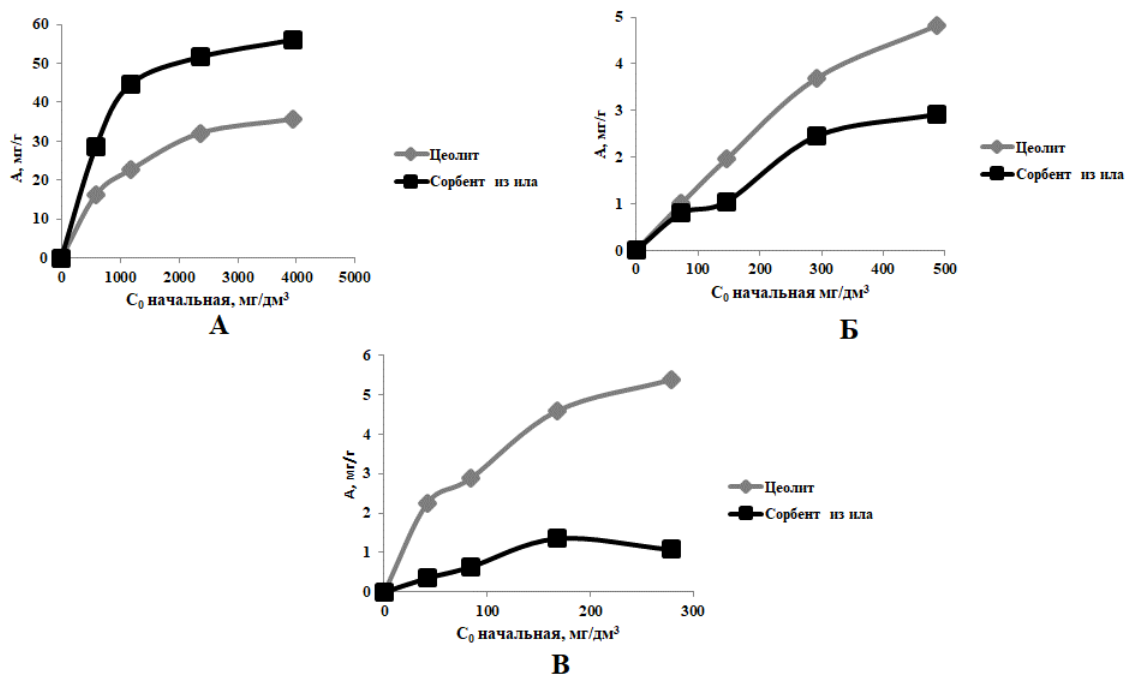


Рисунок 4.10 – Сорбционная емкость компонентов водной фазы изучаемых сорбентов по основным загрязняющим соединениям: А – по ХПК (органические вещества); Б – NH_4^+ ; В – PO_4^{3-}

Согласно полученным экспериментальным результатам максимальная сорбционная емкость по органическим соединениям (ХПК) отмечена для сорбционного материала, полученного из активного ила, и составляет 54 мг/г сорбента, что на 42 % выше, чем у минерального сорбента. Очевидно, что это связано с природой адсорбирующихся веществ из их смеси и конкуренцией их молекул за активные центры сорбента.

Для сорбции неорганических соединений наблюдалась обратная картина. Цеолит показал себя эффективнее, и его сорбционная емкость по NH_4^+ составила 4,9 мг/г по сравнению с сорбентом, полученным из ила ($A = 2,8$ мг/г).

Максимальная сорбционная емкость цеолита была отмечена по фосфат-ионам ($A = 5,7$ мг/г), что обеспечило практически полное удаление фосфат-ионов из исследуемого раствора [198].

Из полученных экспериментальных результатов следует сделать вывод, что сорбент, полученный низкотемпературным пиролизом активного ила, может быть рекомендован для адсорбции токсичных органических веществ водной фазы, а цеолит – для сорбции её неорганических компонентов, прежде всего фосфат-ионов.

4.6 Биосорбционная очистка водной фазы процесса гидротермального ожижения избыточного активного ила

Исходя из полученных экспериментальных результатов по способности бактерий к формированию биопленки и подбору оптимального содержания в среде, водную фазу предварительно разбавляли в 2 раза.

Исходные значения показателей среды культивирования составили: ХПК $\text{мгО/дм}^3=5768,33\pm 205,77$; $\text{NH}_4^+=815,66\pm 15,94$ мг/дм^3 ; $\text{PO}_4^{3-}=338,16\pm 27,46$ мг/дм^3 ; рН $8,41\pm 0,19$. Доза сорбентов составляла 10 г/дм^3 . Количество вносимого инокулята КОЕ/мл: *Paenarthrobacter nicotinovorans* $1,8\times 10^8$; *Comamonas testosteroni* $1,7\times 10^9$.

В ходе периодического культивирования каждые сутки образцы водной фазы стерильно отбирали и измеряли такие параметры как ХПК, концентрацию NH_4^+ и PO_4^{3-} . Прирост биомассы оценивали по содержанию микробного белка. Результаты совместного 5 суточного культивирования бактериальных культур *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* в присутствии цеолита представлены на рисунке 4.11.

Показано, что в течение 5 суток значения ХПК и концентрация NH_4^+ снижались в связи с потреблением органических веществ и аммонийного азота для роста и развития. Совместное культивирование *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* отличалось максимальным накоплением биомассы вследствие активного потребления компонентов водной фазы, нежели при культивировании монокультур. Эффективность совместного культивирования по снижению ХПК составила 81 %, что на 21 и 11 % больше, чем при

культивировании *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* в монокультурах, соответственно [193].

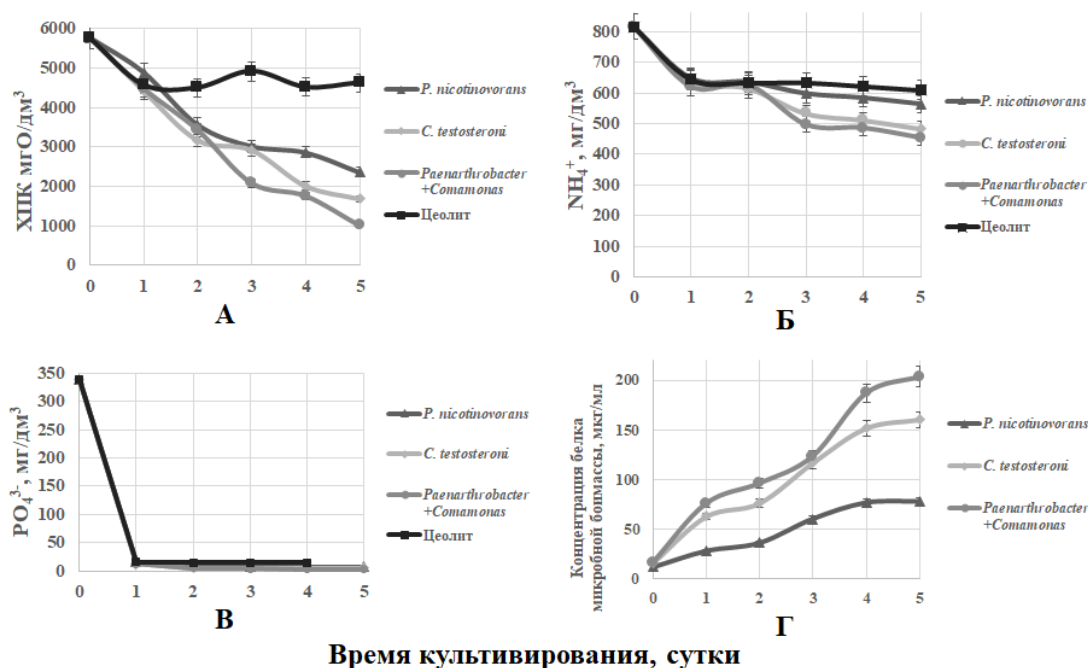


Рисунок 4.11 – Результаты культивирования изучаемых культур в биосорбционной системе с цеолитом: А – ХПК; Б – NH₄⁺; В – PO₄³⁻; Г – прирост биомассы

Следует отметить, что цеолит также вносит определенный вклад в сорбцию органических соединений: эффективность сорбционной очистки по ХПК составила 19 %. Однако можно заметить, что с 1 по 3 сутки в процессе установления сорбционного равновесия имел место процесс десорбции. Можно предположить, что микроорганизмы в составе развитых биопленок потребляют субстрат, адсорбированный в порах сорбента и из раствора, тем самым нарушая сорбционное равновесие.

Основной вклад цеолит вносит в удаление NH₄⁺ из водной фазы: эффективность сорбции составила 25 %. Также было отмечено, что в процессе культивирования не наблюдался эффект десорбции NH₄⁺. При совместном культивировании *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* эффективность по

снижению NH_4^+ составила 41 %, большая часть которого относилось к адсорбции цеолитом.

Интересные результаты показал цеолит по удалению PO_4^{3-} : эффективность адсорбции по PO_4^{3-} составила 97 %, с учетом культивирования бактерий – 99 % [202].

Таким образом, можно отметить, что совместное культивирование изучаемых микроорганизмов в присутствии сорбентов эффективнее по основным показателям в связи с тем, что поверхность сорбента обеспечивает адсорбционное извлечение компонентов водной фазы, а также иммобилизацию бактериальных клеток, участвующих в биоокислении адсорбированных и растворенных примесей [193].

Сорбент, полученный в результате пиролиза активного ила, также проявил высокую эффективность в биосорбционной системе с микробными культурами (рисунок 4.12).

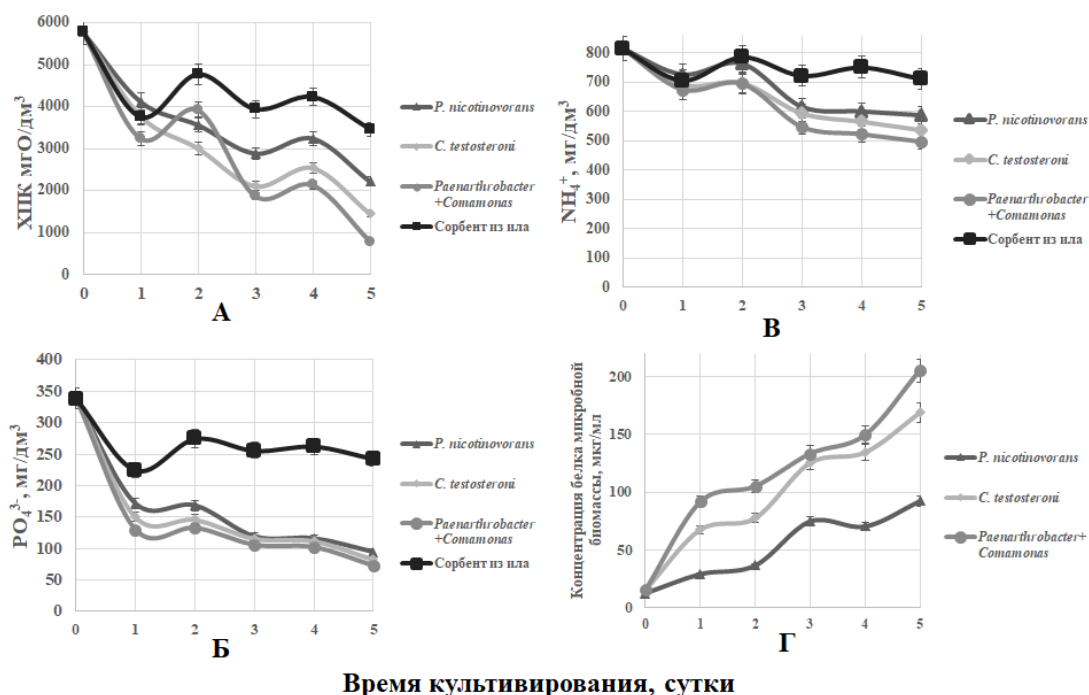


Рисунок 4.12 – Результаты культивирования изучаемых культур в биосорбционной системе с сорбентом из активного ила: А – ХПК; Б – NH_4^+ ; В – PO_4^{3-} ; Г – прирост биомассы

В результате 5 суточного эксперимента эффективность обезвреживания органических компонентов водной фазы ГТО избыточного активного ила составила 40, 61, 72 и 84 % для сорбента, культур *P. nicotinovorans*, *C. testosteroni*, а также при их совместном культивировании, соответственно. В условиях совместного культивирования двух культур в присутствии сорбента последний проявил себя лучше по сравнению с цеолитом, однако процесс очистки был довольно нестабильным и периодически отмечалась десорбция поглощенных компонентов водной фазы [193].

С точки зрения адсорбционного поглощения NH_4^+ и PO_4^{3-} сорбент из активного ила уступал по эффективности цеолиту, которая составила 15 % и 27 %, соответственно. При совместном культивировании микроорганизмов, как в монокультурах, так и в бинарных сообществах концентрация NH_4^+ снижалась в диапазоне от 25 % до 37 %. Это может быть связано с достаточно большой удельной поверхностью сорбента и её высоким сродством к микроорганизмам, что предполагает формирование более плотной биопленки, нежели на цеолите [193].

Существенным недостатком использования сорбента из ила было высвобождение в раствор органических соединений и NH_4^+ и PO_4^{3-} . Однако с участием микроорганизмов десорбция не столь значительно влияла на процесс очистки, что, вероятно, связано с тем, что *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* в процессе биоокисления органических соединений способствовали восстановлению адсорбционной способности сорбента без накопления загрязняющих веществ в среде [203,204].

Также следует отметить, что определяющий вклад в биосорбционном удалении органических компонентов (ХПК) водной фазы избыточного активного ила вносит их биоконверсия, а именно для бинарных культур *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni*: 71 % и 44 % в присутствии цеолита и сорбента из ила, соответственно.

Обратная ситуация отмечена для удаления NH_4^+ и PO_4^{3-} , которое осуществлялось преимущественно сорбционным путем и, более всего, с

участием цеолита (55 % NH_4^+ и до 99 % PO_4^{3-}). В связи с этим можно сделать вывод, что совместное культивирование адсорбентов со смешанными культурами способствует эффективному изъятию из водной фазы гидротермального ожигения избыточного активного ила не только органических соединений за счет их минерализации, но и NH_4^+ и PO_4^{3-} [193].

4.7 Выводы по главе 4

Из активного ила ПАО «Нижекамскнефтехим» было получено 11 микробных изолятов, способных использовать водную фазу процесса гидротермального ожигения в качестве основы питательной среды. Определено разбавление водной фазы, необходимое для эффективного культивирования полученных микробных изолятов и оценена эффективность деструкции органических соединений водной фазы по ХПК.

По результатам секвенирования последовательностей 16S рРНК перспективных изолятов было показано, что изолят S2 идентифицирован как *P. glycinae*, S7 – *P. nicotinovorans*, S11 – *C. testosteroni*.

Оценена способность бактерий формировать биопленки как в монокультурах, так и в бинарных сообществах с потреблением в качестве субстрата компонентов водной фазы гидротермального ожигения биомассы избыточного активного ила. Отмечено, что при содержании водной фазы в среде в количестве 50 % в процессе совместного культивирования микроорганизмов *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* формировалась более плотная, развитая биопленка, чем при культивировании монокультур.

Внесение минерального сорбента – цеолита в среду культивирования повышало эффективность удаления органических веществ, а также источников азота и фосфора. Совместное культивирование *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* в присутствии сорбента, полученного из активного ила, также способствовало эффективному удалению поллютантов из водной фазы с периодическим десорбированием загрязняющих веществ в раствор.

ГЛАВА 5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ ДООЧИСТКИ ВОДНОЙ ФАЗЫ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ ОТ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

В ряде работ было показано, что использование питательных веществ, содержащихся в водной фазе, приводит к повышению энергоэффективности и экономической целесообразности процесса ГТО [58,166,205-206].

Оценка жизненного цикла процесса показала, что за счет использования водной фазы ГТО окупаемость инвестиций в энергию была увеличена на 10-20% с точки зрения добычи нефти на единицу энергии, полученной в результате повторного роста микроводорослей с использованием водной фазы [207]. Однако в водной фазе помимо биогенных элементов содержатся и токсичные соединения (см. главу 3), которые могут ингибировать рост микроводорослей, и для их культивирования необходимо большое разбавление, либо ее предварительная обработка с использованием альтернативных методов биологической конверсии.

В главе 4 было показано, что микроорганизмы-деструкторы способны обезвреживать в основном только органические соединения, а эффективность изъятия биогенных элементов варьирует в интервале от 10-30 %.

Таким образом, последовательная очистка водной фазы микроорганизмами и микроводорослями позволит повысить эффективность обезвреживания водной фазы по удалению биогенных элементов с меньшим разбавлением водной фазы процесса ГТО [205].

5.1 Периодическое культивирование микроводорослей на водной фазе процесса гидротермального ожигания избыточного активного ила

Водную фазу предварительно разбавляли в 50 раз дистиллированной водой до концентрации растворенных веществ мг/дм³: ХПК – $354,7 \pm 12,3$; NH₄⁺ – $18,9 \pm 1,1$; PO₄³⁻ – $9,4 \pm 0,7$. Такая концентрация водной фазы по

литературным данным не ингибирует рост хлореллы в процессе периодического культивирования [205].

Результаты культивирования 9 штаммов микроводорослей на водной фазе представлены на рисунке 5.1.

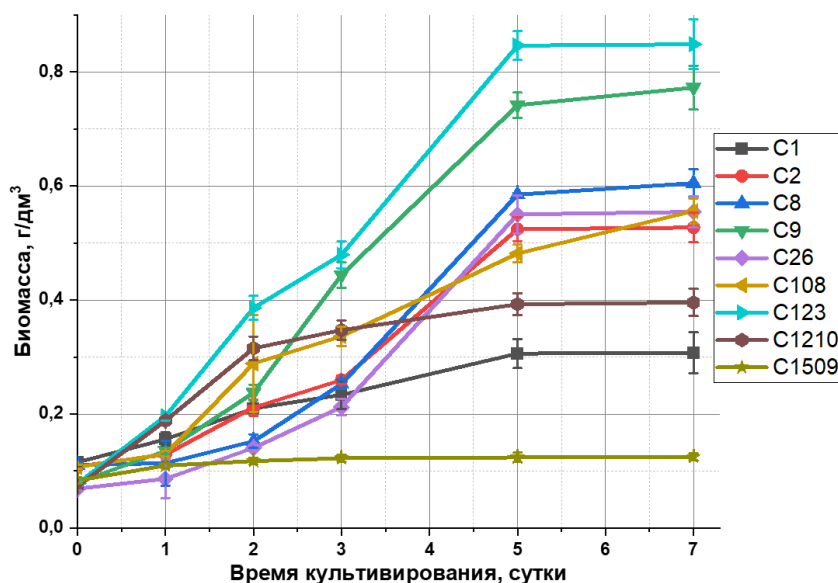


Рисунок 5.1 – Кривые роста, исследуемые культур микроводорослей при культивировании на водной фазе

В ходе периодического культивирования было показано, что изучаемые штаммы способны использовать компоненты водной фазы в качестве субстрата, за исключением *Nannochloris sp.* IPPAS C-1509.

Рост культур на водной фазе можно описать классической сигмоидальной кривой роста. Можно отметить, что на начальном этапе культивирования некоторые микроводоросли адаптировались к компонентам водной фазы, и наблюдалась продолжительная лаг-фаза, которая длилась до 3 суток для культур *C. sorokiniana* IPPAS C-1, *C. pyrenoidosa* IPPAS C-26.

Для штаммов *C. vulgaris* IPPAS C-2, *C. ellipsoidea* IPPAS C-8, *P. kessleri* IPPAS C-9, *C. zofingiensis* IPPAS C-108 экспоненциальная фаза роста отмечена, начиная со вторых суток. Вероятно, это связано с тем, что водная фаза для них

проявляет меньшую токсичность, и их ферментативная система быстро адаптировалась к условиям среды.

Интересная ситуация наблюдалась для культуры *C. minutissima* IPPAS C-123: по результатам культивирования у нее отсутствовала лаг-фаза. С первых суток был отмечен стремительный рост, на вторые сутки культура вышла на стационарную фазу, и деление клеток резко снизилось. Однако в период с 3 по 5 сутки снова был зарегистрирован экспоненциальный рост. Таким образом, можно предположить, что штамм *C. minutissima* IPPAS C-123 проявляет закономерность диауксического роста на многокомпонентной водной фазе.

Экспоненциальная фаза большинства микроводорослей начиналась на 2-3 сутки и продолжалась в течение 24-48 часов. На 5-е сутки культивирования практически все культуры вышли на стационарную фазу роста, и потребление субстрата постепенно прекращалось.

Таким образом, в ходе периодического культивирования в течение 7 суток все изучаемые культуры вышли на стационарную фазу роста, за исключением штамма *Nannochoris sp.* IPPAS C-1509, для которого незначительный рост наблюдался на начальном этапе культивирования.

В таблице 5.1 представлены основные показатели культивирования (μ_{\max} , $t_{\text{удв}}$, P_k) микроводорослей на водной фазе.

Таблица 5.1 – Ростовые характеристики изучаемых культур микроводорослей в процессе периодического культивирования

Номер штамма IPPAS	μ_{\max} , сут ⁻¹	$t_{\text{удв}}$, ч	P_k , г/дм ³
C-1	0,30	55,34	0,19
C-2	0,49	33,71	0,41
C-8	0,51	32,83	0,49
C-9	0,62	26,57	0,69
C-26	0,48	34,19	0,48
C-108	0,79	20,80	0,44
C-123	0,92	17,91	0,77
C-1210	0,94	17,67	0,32
C-1509	0,27	61,40	0,04

Штамм *Chlorella sp.* IPPAS C-1210 имел один из самых высоких значений μ_{\max} , и $t_{\text{удв}}$, в экспоненциальной фазе составивших $0,94 \text{ сут}^{-1}$ и 17,67 ч, соответственно. Однако, экспоненциальная фаза для этого штамма длилась вдвое суток, и уже в начале стационарной фазе время удвоения увеличилось до 84,3 часов. Значение P_k была ниже средних значений среди исследуемых штаммов и составило $0,32 \text{ г/дм}^3$.

У штаммов *C. sorokiniana* IPPAS C-1, *C. vulgaris* IPPAS C-2, *C. ellipsoidea* IPPAS C-8, *C. pyrenoidosa* IPPAS C-26, *Nannochoris sp.* IPPAS C-1509 значение μ_{\max} находилось в диапазоне $0,27-0,49 \text{ сут}^{-1}$, что соответствует $t_{\text{удв}}$ 61,40-33,71 ч. Урожайность этих культур составила $0,04-0,48 \text{ г/дм}^3$. Следует отметить, что культура *Nannochoris sp.* IPPAS C-1509 имела самый низкий прирост и наименьшую удельную скорость роста по сравнению с другими изучаемыми штаммами.

Штаммы *P. kessleri* IPPAS C-9, *C. zofingiensis* IPPAS C-108, *C. minutissima* IPPAS C-123 отличались высокими значениями $\mu_{\max} = 0,62-0,92 \text{ сут}^{-1}$ и высокой скоростью удвоения биомассы - 26,57-17,91 ч. Культура *C. zofingiensis* IPPAS C-108 вследствие короткой экспоненциальной фазы роста имела средний прирост биомассы, равный $0,44 \text{ г/л}$.

Также следует отметить, что культуры *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123 отличались высокой продуктивностью – $0,69$ и $0,77 \text{ г/дм}^3$, соответственно, по сравнению с другими изучаемыми штаммами.

5.2 Оценка эффективности удаления загрязняющих веществ из водной фазы с использованием микроводорослей

По истечении 7 суток культивирования оценивали потребление микроводорослями загрязняющих веществ (NH_4^+ , PO_4^{3-} , ХПК), эффективность удаления которых из водной фазы представлена на рисунке 5.2

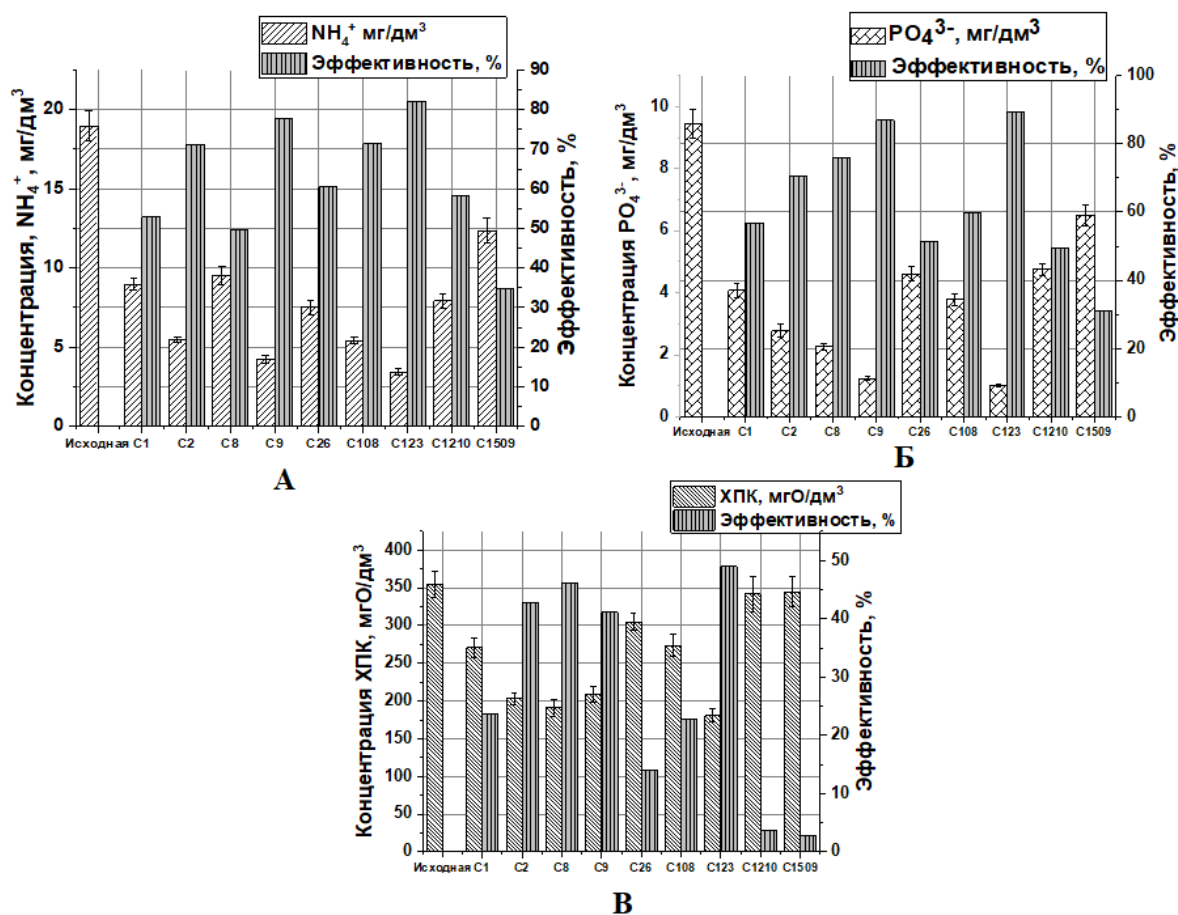


Рисунок 5.2 – Эффективность удаления загрязняющих веществ микроводорослями: А – NH_4^+ ; Б – PO_4^{3-} ; В – ХПК

Все изучаемые культуры в разной степени потребляли NH_4^+ и PO_4^{3-} из водной фазы.

Эффективность изъятия NH_4^+ варьировала от 30 до 82 %. Лучший результат по удалению NH_4^+ из водной фазы показали штаммы *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123. Концентрация NH_4^+ снижалась с 18,9 мг/дм³ до 4,1 и 3,8 мг/дм³ для *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123, соответственно (эффективность составила 78 и 81 %, соответственно).

Следует отметить, что культуры *C. vulgaris* IPPAS C-2, *C. pyrenoidosa* IPPAS C-26, *C. zofingiensis* IPPAS C-108 менее активно использовали NH_4^+ со степенью изъятия из среды 71 %, 72 % и 60 %, соответственно.

Незначительное потребление аммонийного азота было отмечено у *C. sorokiniana* IPPAS C-1, *C. ellipsoidea* IPPAS C-8, *Nannochoris sp.* IPPAS C-1509.

Вероятно, для роста и развития этих культур в большей степени необходим азот в нитратной форме, нежели аммонийной. Тем не менее, известно, что некоторые виды хлореллы предпочитают азот в аммонийной форме, так как его легче трансформировать в аминный для дальнейшего синтеза собственных белков [55].

Значительная часть азота в водной фазе присутствует в форме органических соединений, которые, по-видимому, легко ассимилируются культурами *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123, что сопровождается снижением ХПК на 41 и 48 %, соответственно.

В противоположность вышеуказанным культурам микроводорослей штамм *Chlorella sp.* IPPAS C-1210 усваивал азот в аммонийной форме с эффективностью его удаления 56 %, в то время как деструкция органических соединений по ХПК составляла не более 7 %. Схожая ситуация отмечена для культуры *Nannochoris sp.* IPPAS C-1509 (рисунок 5.2).

Степень удаления ХПК для остальных культур варьировала от 16 до 42 %. Исходя из значений ХПК водной фазы по истечению времени культивирования можно сказать, что изучаемые микроводоросли имеют миксотрофный тип питания и способны усваивать как неорганический, так и органический углеродный субстрат.

Штамм *C. minutissima* IPPAS C-123 являлся наиболее активным по способности ассимилировать фосфат-ионы. За 7 суток культивирования их концентрация с 9,4 мг/дм³ снизилась до 0,89 мг/дм³ с эффективностью дефосфотации водной фазы 91%. Также было отмечено, что сравнимую эффективность дефосфотации проявлял штамм *P. kessleri* IPPAS C-9 (89%). Остальные изучаемые культуры потребляли фосфат-ионы менее активно по сравнению с *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123.

На основании полученных экспериментальных результатов следует сделать вывод, что культуры *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123 оказались в большей степени адаптированными к компонентам водной фазы

гидротермального ожигения [208], о чем говорят высокие значения скорости роста и прироста биомассы.

Таким образом, исходя из проведенной серии экспериментов по периодическому культивированию микроводорослей на компонентах водной фазы и оценки изъятия загрязняющих веществ, в качестве перспективных для использования были выделены две культуры – *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123.

5.3 Количественный состав биомассы микроводорослей после культивирования на водной фазе процесса гидротермального ожигения

В научной литературе встречается большое количество исследований по очистке сточных вод микроводорослями с получением их биомассы и оценки содержания липидов, полисахаридов и белков в составе их биомассы [166,209].

В дальнейшем биомассу микроводорослей можно использовать в качестве продукта с добавленной стоимостью. С целью оценки возможностей использования биомассы исследованных культур дополнительно исследовали количественный состав биомассы культур *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123 после их культивирования на водной фазе (рисунок 5.3).

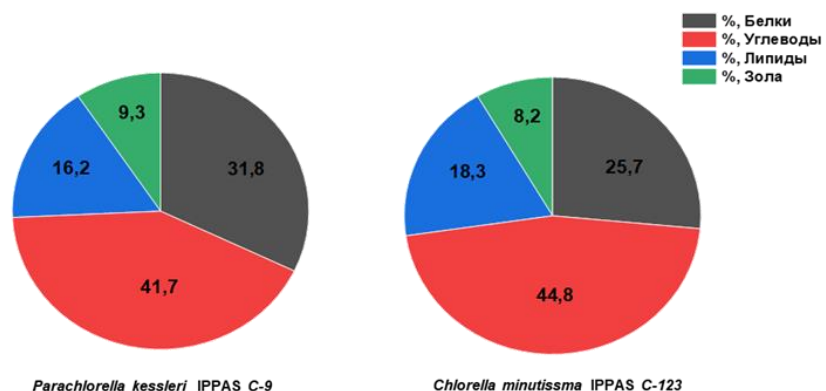


Рисунок 5.3 – Количественный состав биомассы исследованных культур микроводорослей

Было отмечено, что большая часть биомассы водорослей состоит из полисахаридов – 41 % и 44 % (масс.) для культур *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123 соответственно.

Помимо полисахаридов изучаемые культуры имеют в своем составе достаточно высокое содержание белков – 30,7 % (масс.), что определяет возможность их использования в качестве кормовой добавки для аквакультуры [210].

Было показано, что *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123 имеют низкое содержание липидов в своем составе – 16,2 % и 18,3 % соответственно. Это обстоятельство определяет недостаточно высокое качество бионефти [58]. Биомасса микроводорослей, предназначенная для производства биоэнергетических агентов путем гидротермального охижения, должна отличаться высоким содержанием липидов и низкой концентрацией предшественников гетероатомов (белков и углеводов) [211]. Последние способствуют образованию биоугля. Отмечено [212], содержание белка в биомассе представляет существенную проблему, поскольку азотсодержащие соединения в бионефти существенно снижают ее качество и энергетический потенциал.

Известно, что липиды накапливаются в микроводорослях в значительных количествах в условиях азотного голодания [58]. Следует предположить, что культивирование водорослей в течение длительного времени будет способствовать полному исчерпанию азота из водной фазы, что приведет к накоплению липидной фракции в биомассе водорослей. Однако длительное время культивирования определяет низкие производительность и рентабельность процесса очистки сточных вод.

5.4 Доочистка компонентов водной фазы с использованием микроводорослей

Выращивание микроводорослей на водной фазе гидротермального охижения избыточного активного ила обеспечивает восстановление веществ

из водной фазы в виде биомассы водорослей. В дальнейшем её можно использовать в качестве сырья для производства различных биопродуктов, однако, для этого необходимо высокое разбавление водной фазы из-за их высокой чувствительности к компонентам водной фазы [58].

В отличие от водорослей аэробные культуры микроорганизмов обладают высокой устойчивостью к токсичным соединениям. Интеграция процессов бактериальной очистки сточных вод с использованием микроводорослей позволит повысить эффективность изъятия поллютантов из водной фазы и уменьшить количество чистой воды для разбавления [58].

Микроорганизмы *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* показали хорошую степень деструкции компонентов водной фазы и устойчивость к токсичным соединениям, которые они используют в качестве субстрата (см. главу 4). Водную фазу предварительно разбавляли в 5 раз дистиллированной водой до концентрации растворенных веществ мг/дм³: ХПК – 2554,61 ± 138,12; NH₄⁺ – 289,8 ± 14,9; PO₄³⁻ – 116,3 ± 8,1.

По истечении 48 часов культивирования концентрация органических соединений по ХПК снизилась с 2554,61 до 447,13 мгО/дм³, что соответствует эффективности 82 %. При этом вклад бактерий в удаление биогенных элементов оказался незначительным и составил 22 % и 27 % по NH₄⁺ и PO₄³⁻, соответственно [213].

Низкие показатели по бактериальному изъятию биогенных элементов можно объяснить тем, что представленные микроорганизмы не относятся к фосфат-аккумулирующим и нитрифицирующим культурам. Энергию для своего метаболизма они получают путем минерализации органических соединений, небольшое количество аммония и фосфатов им необходимо для пластического обмена [213].

Культуры микроводорослей *P. kessleri* С-9 и *C. minutissima* С-123 выращивали на водной фазе после бактериальной деструкции в течение 15 суток с регистрацией основных показателей удаления загрязняющих веществ.

На рисунке 5.4 представлены кривые роста и изменение концентраций поллютантов в водной фазе.

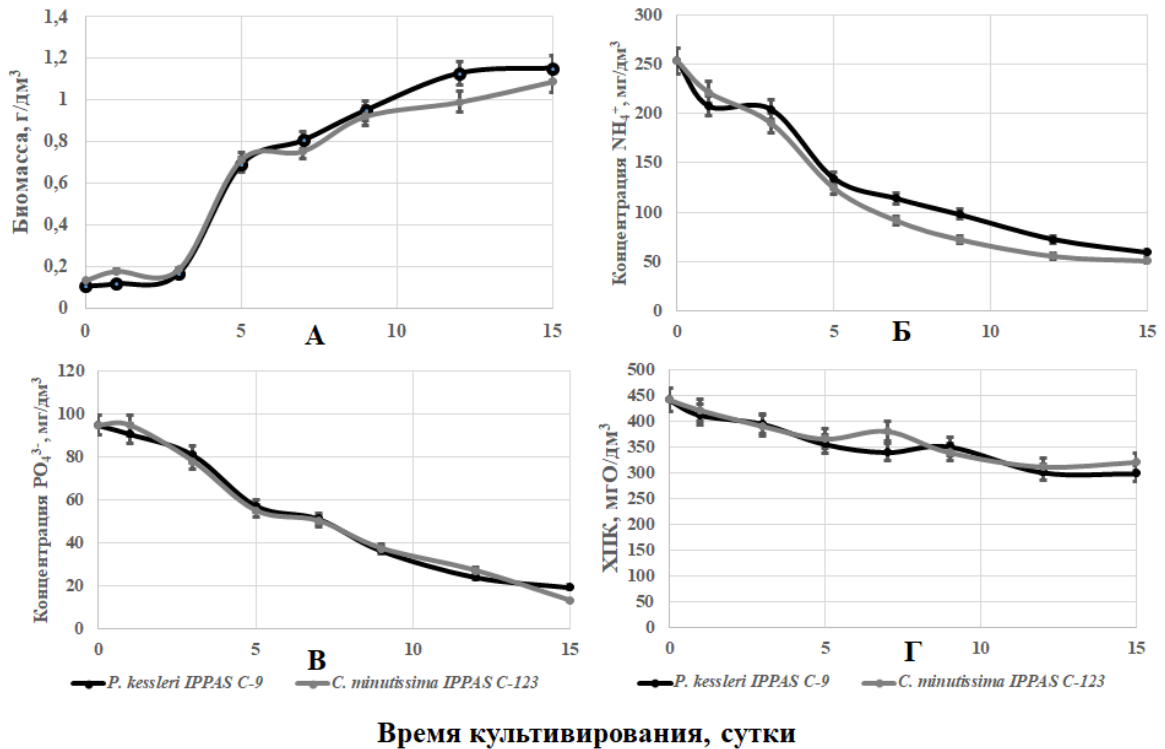


Рисунок 5.4 – Результаты обезвреживания водной фазы микроводорослями после бактериальной деструкции: А – прирост биомассы; Б – NH₄⁺; В – PO₄³⁻; Г – ХПК

В ходе периодического культивирования микроводорослей наблюдалось постепенное снижение NH₄⁺ и фосфат-ионов для обеих культур. По истечении 15 суток культивирования концентрация NH₄⁺ снизилась с 248 до 58 и 51 мг/дм³ у культур *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123, соответственно [213].

Потребление PO₄³⁻ в случае такой комбинации бактериальной очистки и использовании микроводорослей было активнее в сравнении с непосредственным использованием микроводорослей для очистки водной фазы: степень извлечения PO₄³⁻ достигала 86 % для *C. minutissima* IPPAS C-123. Эффективность удаления органических соединений по ХПК оказалась

довольно низкой по сравнению с бактериальной очисткой и составила 32 % и 27 % для штаммов *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123, соответственно [213].

Интересным является тот факт, что на водной фазе, которую частично минерализовали с помощью бактерий, увеличилось время выхода культур микроводорослей на стационарную фазу. По истечении 5 суток, у обеих культур завершилась активный период экспоненциального роста, но стационарная фаза еще не состоялась. Был отмечен медленный прирост биомассы, который продолжался в течение 10 суток.

Общий прирост биомассы составил 1,04 и 1,23 г/дм³ для *P. kessleri* и *C. minutissima*, соответственно, что на 30 % больше в сравнении с непосредственным использованием микроводорослей для очистки водной фазы.

Полученные экспериментальные результаты можно объяснить тем, что обработка водной фазы микроорганизмами-деструкторами обеспечила снижение концентрации токсичных соединений, ингибирующих рост микроводорослей.

Таким образом, можно отметить, что последовательная очистка водной фазы с использованием микроорганизмов деструкторов и микроводорослей эффективнее, нежели использование только бактерий или водорослей по отдельности. При реализации такого подхода можно добиться практически полного удаления как органических соединений по ХПК, так и основных биогенных элементов (N, P) [213].

5.5 Выводы по главе 5

Изучена способность микроводорослей использовать в качестве субстрата компоненты водной фазы гидротермального ожижения избыточного активного ила, и оценены основные показатели и культивирования. Показано, что штаммы *P. kessleri* IPPAS C-9, *C. zofingiensis*

IPPAS C-108, *C. minutissima* IPPAS C-123 демонстрируют в этом случае наиболее высокие скорости роста. Эффективнее остальных по удалению основных загрязняющих веществ из водной фазы оказались культуры *P. kessleri* IPPAS C-9 и *C. minutissima* IPPAS C-123.

Биомасса исследуемых культур микроводорослей отличалась большим содержанием полисахаридов и белков, но имела низкое содержание липидов. В связи с этим их избыточную биомассу в дальнейшем можно использовать как кормовую добавку для аквакультур или в процессе гидротермального ожижения с получением биоугля.

В ходе двухэтапной очистки водной фазы с использованием бактериальных культур и микроводорослей была достигнута высокая степень удаления органических и неорганических компонентов из водной фазы.

Таким образом, показано, что водная фаза процесса гидротермального ожижения избыточного активного ила может являться перспективным источником питательных веществ в процессах культивирования микроводорослей. Предварительная обработка водной фазы микробными культурами позволила увеличить выход биомассы водорослей и снизить количество воды для разбавления водной фазы с целью ее подготовки для культивирования.

Однако процесс двухэтапной очистки довольно длителен и занимает 17 суток, что затрудняет ее интеграцию в технологическую схему действующих очистных сооружений. Изученный подход для доочистки с использованием микроводорослей на практике можно реализовывать в биопрудах в летний период времени.

ГЛАВА 6. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОВМЕСТНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ ВОДНОЙ ФАЗЫ С КОММУНАЛЬНО-БЫТОВЫМИ СТОЧНЫМИ ВОДАМИ

В аналитическом обзоре литературы было показано, что в настоящий момент имеется мало работ, посвященных использованию процесса гидротермального охижения (ГТО) избыточного активного ила в практике эксплуатации действующих очистных сооружений. Существует множество проблем, препятствующих включению процесса ГТО в технологическую схему биологической очистки сточных вод (БОСВ), связанных с необходимостью разбавления водной фазы коммунальными стоками для предотвращения ингибирующего эффекта токсичных компонентов на микробиоценоз активного ила, определения режимов культивирования микробного сообщества активного ила и нагрузки по органическим веществам и биогенным элементам.

Для решения проблемы интеграции реактора гидротермального охижения в технологическую схему биологических очистных сооружений, изначально необходимо оценить потенциал биодеструкции водной фазы, смешанной с поступающими коммунально-бытовыми сточными водами на состояние активного ила. С этой целью в лабораторных условиях проводили периодическое и отъемно-доливное культивирование активного ила с водной фазой, смешанной с коммунально-бытовыми сточными водами. Полученные экспериментальные данные позволят сформировать научно-техническое предложение по утилизации органических отходов очистных сооружений с получением продуктов с добавленной стоимостью (бионефть, биоуголь) и биообезвреживанием образующийся водной фазы по месту на очистных сооружениях.

Периодическое культивирование проводилось с целью исследования характеристик активного ила после внесения водной фазы процесса ГТО, разбавленной модельным раствором сточной воды. Длительность контакта

активного ила с исследуемой средой составляла 12-16 часов, что соответствует времени пребывания активного ила в аэротенках на биологических очистных сооружениях г. Иннополис.

Проведение процесса очистки сточных вод в режиме отъемно-доливного культивирования с выбранными концентрациями водной фазы в среде позволило оценить хронический эффект воздействия на активный ил от внесения водной фазы. Продолжительность культивирования составляла 10 суток, слив надильовой жидкости и внесение свежей порции питательной среды осуществлялось каждые 24 часа.

Культивирование активного ила проводили на модельном растворе сточной воды (таблица 6.1) в целях стабильности влияния его состава с добавлением водной фазы процесса ГТО в различных концентрациях.

Таблица 6.1 – Состав модельного раствора сточной воды

Компонент	Содержание
Сахароза, г/дм ³	0,12
Крахмал, г/дм ³	0,01
Глицерин, мкл/дм ³	10
NH ₄ Cl, г/дм ³	0,08
K ₂ HPO ₄ , г/дм ³	0,015

На основании производственных данных было рассчитано, что в случае гидротермального ожижения избыточного активного ила и осадков первичных отстойников на БОС г. Иннополис в сутки в среднем будет образовываться 15-17,4 м³/сут водной фазы, при смешении с поступающей на очистку сточной водой концентрация водной фазы будет составляет 1,5-1,8 %.

В соответствии с расчетным данным для проведения экспериментов по периодическому культивированию активного ила с водной фазой, смешанной с поступающими сточными водами были выбраны ее следующие концентрации – 0,5; 1; 1,5; 2; 3 % (об.).

6.1 Периодическое культивирование активного ила на водной фазе гидротермального ожижения с коммунально-бытовыми сточными водами

Начальные концентрации основных веществ при внесении разного объема водной фазы к модельному раствору сточной воды, показаны в таблице 6.2.

Таблица 6.2 – Характеристика модельного раствора сточной воды и вносимой в нее водной фазы процесса ГТО

Концентрация водной фазы, %	ХПК, мгО/дм ³	NH ₄ ⁺ , мг/дм ³	NO ₂ ⁻ , мг/дм ³	NO ₃ ⁻ , мг/дм ³	PO ₄ ³⁻ , мг/дм ³
Контроль (0)	304 ± 6	18,52 ± 2,07	-	-	10,37 ± 0,78
0,5	382 ± 24	32,69 ± 1,28	0,39 ± 0,04	0,11 ± 0,01	13,21 ± 0,89
1	448 ± 8	51,09 ± 1,59	0,52 ± 0,02	0,15 ± 0,01	17,71 ± 2,14
1,5	504 ± 29	57,30 ± 1,83	0,66 ± 0,13	0,22 ± 0,02	21,15 ± 1,79
2	563 ± 16	62,47 ± 4,72	0,79 ± 0,05	0,27 ± 0,01	24,36 ± 1,81
3	658 ± 26	72,62 ± 4,17	1,02 ± 0,09	0,32 ± 0,03	31,14 ± 0,73

Изменение концентрации органических веществ по ХПК и значения дегидрогеназной активности микроорганизмов активного ила в процессе периодического культивирования показаны на рисунке 6.1.

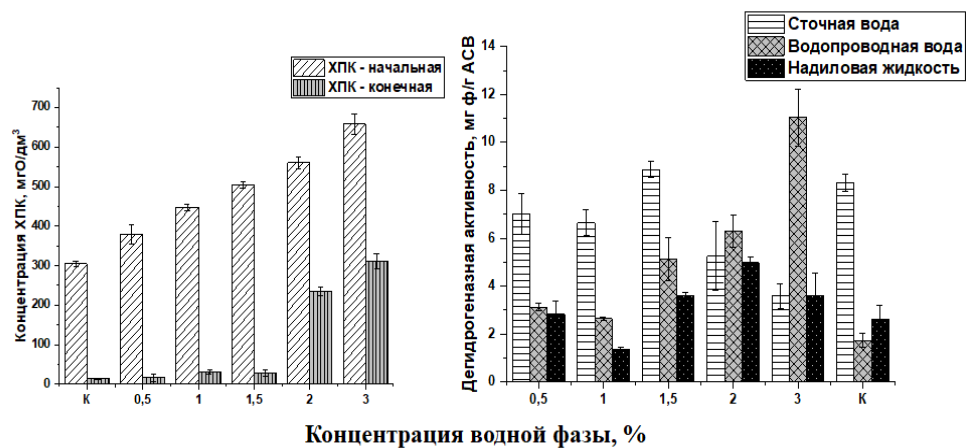


Рисунок 6.1 – Изменение концентрации органических веществ по ХПК и дегидрогеназной активности в процессе периодического культивирования с добавлением водной фазы процесса ГТО

Согласно полученным экспериментальным результатам, на уровне контрольной системы обеспечивается эффективность удаления органических соединений при внесении водной фазы в концентрации, не превышающей 1,5 %. При повышении концентрации водной фазы в среде степень деструкции органических соединений линейно снижается, что может быть связано с тем, что в условиях острого опыта микроорганизмы активного ила недостаточно быстро адаптируются к трудноокисляемому субстрату. Этот вывод подтверждается результатами определения дегидрогеназной активности образцов активного ила. Кроме того, отмечено, что при внесении водной фазы в концентрации 3 % наблюдалось интенсивное пенообразование и вынос активного ила [214].

По истечении 16 часов культивирования активный ил показал низкую дегидрогеназную активность к сточной воде при концентрации водной фазы 2 % и выше и довольно высокую активность к водопроводной воде по сравнению с меньшими концентрациями. Также была отмечена высокая дегидрогеназная активность при использовании в качестве субстрата надилловой жидкости при внесении водной фазы от 1,5 % и выше (при сравнении с водопроводной водой).

Полученные результаты можно объяснить тем, что исследуемый активный ил не способен в полном объеме минерализовать органические соединения водной фазы в среде с её высокими концентрациями (выше 2 %) [214]. Для полного биообезвреживания водной фазы с коммунально-бытовыми сточными водами при её высоком содержании, необходимо дополнительно использовать физико-химические или химические способы обезвреживания, перед стадией биологической очистки.

Таким образом, оптимальной концентрацией водной фазы в среде, обеспечивающей максимальную ферментативную активность и удаление органических соединений в остром опыте, составляет 1-1,5 %.

Биотрансформация соединений азота в ходе периодического культивирования показано на рисунке 6.2.

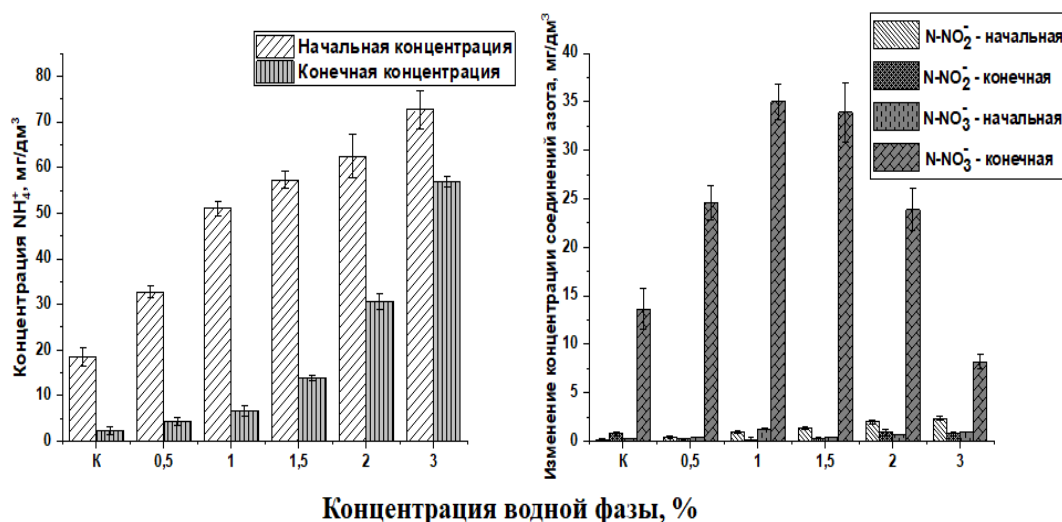


Рисунок 6.2 – Изменение концентрации соединений азота в ходе периодического культивирования с добавлением водной фазы различной концентрации

Результаты, приведенные на рисунке 6.2, описывают ассимиляцию NH_4^+ и протекание процесса нитрификации.

Эффективность окисления NH_4^+ , сравнивая с контрольной системой, сохраняется при внесении раствора водной фазы в модельный раствор сточной воды в объеме 0,5-1%. При этом процесс нитрификации протекает наиболее интенсивно при концентрациях водной фазы 1-1,5%. Таким образом, оптимальной концентрацией водной фазы, при которой следует ожидать эффективное удаление NH_4^+ с трансформацией его в NO_2^- и NO_3^- , является 1,5 %.

Повышение концентрации водной фазы до 2 и 3 % определяет существенное ингибирование первой стадии процесса нитрификации. В водной фазе присутствуют гетероциклические азотосодержащие соединения, которые не оказывают бактерицидное действие на нитрифицирующие микроорганизмы первой стадии, однако блокируют фермент аммиак монооксигеназу (номер ЕС 1.14.99.39). Таким образом, бактерии оказываются неспособными окислять азот в аммонийной форме до гидроксил-иона, а затем до нитритов [215,216]. Для предотвращения ингибирования 1 стадии процесса нитрификации необходимо проводить адаптационные мероприятия активного

ила либо предварительно обезвреживать водную фазу с использованием физико-химических методов перед биологической очисткой.

На рисунке 6.3 представлены результаты по удалению PO_4^{3-} в ходе периодического культивирования активного ила с водной фазой.

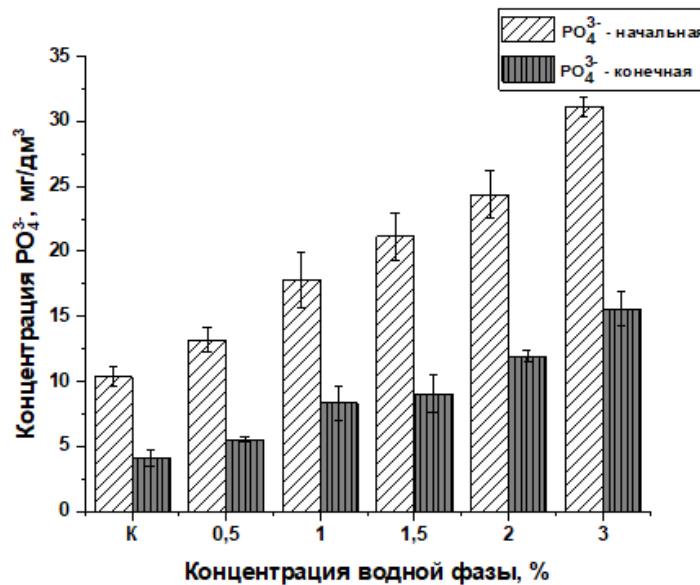


Рисунок 6.3 – Изменение концентрации фосфат-ионов в ходе периодического культивирования с добавлением водной фазы

Согласно полученным результатам с увеличением концентрации водной фазы количество потребляемого фосфора увеличивается, но в процентном соотношении (от первоначального значения) эффективность изъятия PO_4^{3-} из сточной воды в опытных вариантах по сравнению с контрольным является незначительным. Средняя эффективность удаления PO_4^{3-} для всех систем составляла в среднем 51 %.

Таким образом, экспериментально показано, что по совокупности результатов химического анализа состава модельного раствора в ходе периодического культивирования активного ила оптимальным значением концентрации водной фазы в среде является 1,5 %.

На основании результатов количественного потребления субстрата единицей биомассы активного ила в процессе периодического

культивирования была рассчитана удельная скорость метаболизма (метаболический коэффициент) q_s для различных субстратов и коэффициент нитрификации (таблица 6.3).

Таблица 6.3 – Значения метаболического коэффициента и коэффициента нитрификации в процессе периодического культивирования активного ила

Концентрация водной фазы, %	Микробное потребление субстрата, мг/(г/АСБ·сут)			Коэффициент нитрификации (K_N)
	Субстрат			
	Органические вещества	Аммонийный азот	Фосфор фосфатов	
К	201,66	16,31	3,50	0,78
0,5	201,85	15,70	3,81	0,76
1	234,19	22,43	3,98	0,69
1,5	242,22	25,90	6,92	0,59
2	180,74	15,62	7,80	0,39
3	193,33	8,38	9,16	0,12

Рассчитанные значения метаболического коэффициента свидетельствует о снижении физиологической активности микробиоценоза активного ила при внесении водной фазы 2 % и выше. Полную противоположность составляют результаты удаления фосфора фосфатов. Вероятно, это связано с тем, что компоненты водной фазы не подавляют рост фосфат аккумулирующих микроорганизмов, а наличие органических кислот (см. главу 3) способствует потреблению PO_4^{3-} .

По расчетам видно, как снижется нитрифицирующая активность при увеличении концентрации водной фазы, что подтверждает литературные данные о подавлении нитрифицирующих микроорганизмов компонентами водной фазы [215].

По окончании культивирования оценивали физико-химические характеристики активного ила и его седиментационные свойства (таблица 6.4).

Таблица 6.4 – Изменение показателей активного ила в ходе периодического культивирования с добавлением раствора водной фазы после ожигения различной концентрации

Концентрация водной фазы, %	Доза ила, г/дм ³ (начальная)	Зольность, % (начальная)	Доза ила, г/дм ³ (конечная)	Зольность, % (конечная)	Прирост сухого вещества, г	Иловый индекс
К	2,86±0,19	28,8	2,96±0,23	26,4	0,10±0,04	91,3±5,1
0,5	2,73±0,03	24,6	2,89±0,08	21,5	0,16±0,06	85,6±3,0
1	2,99±0,10	29,5	3,14±0,07	26,3	0,14±0,01	91,7±9,7
1,5	2,54±0,02	35,1	2,67±0,04	32,6	0,13±0,05	104,6±3,7
2	3,08±0,11	27,6	3,14±0,09	24,3	0,06±0,02	111,3±3,1
3	2,85±0,03	27,5	2,87±0,01	30,6	0,02±0,04	121,5±12,3

Прирост активного ила отмечен при внесении водной фазы в модельной раствор сточной воды в концентрации до 1,5 % (таблица 6.3), что связано с метаболизмом дополнительных источников углерода, вносимых с водной фазы. Однако увеличение концентрации водной фазы в среде приводит к замедлению прироста биомассы из-за возможного ингибирующего действия компонентами водной фазы. Значения илового индекса также указывают на ухудшение седиментационных свойств активного ила при увеличении концентрации водной фазы.

В ходе микроскопирования образцов активного ила были проанализированы размеры хлопьев и рассчитаны индексы биоразнообразия. Отмечено, что в результате периодического культивирования активного ила на модельном растворе с водной фазой в зависимости от концентрации водной фазы изменялись площадь хлопьев, а также показатели биологического разнообразия (рисунке 6.4).

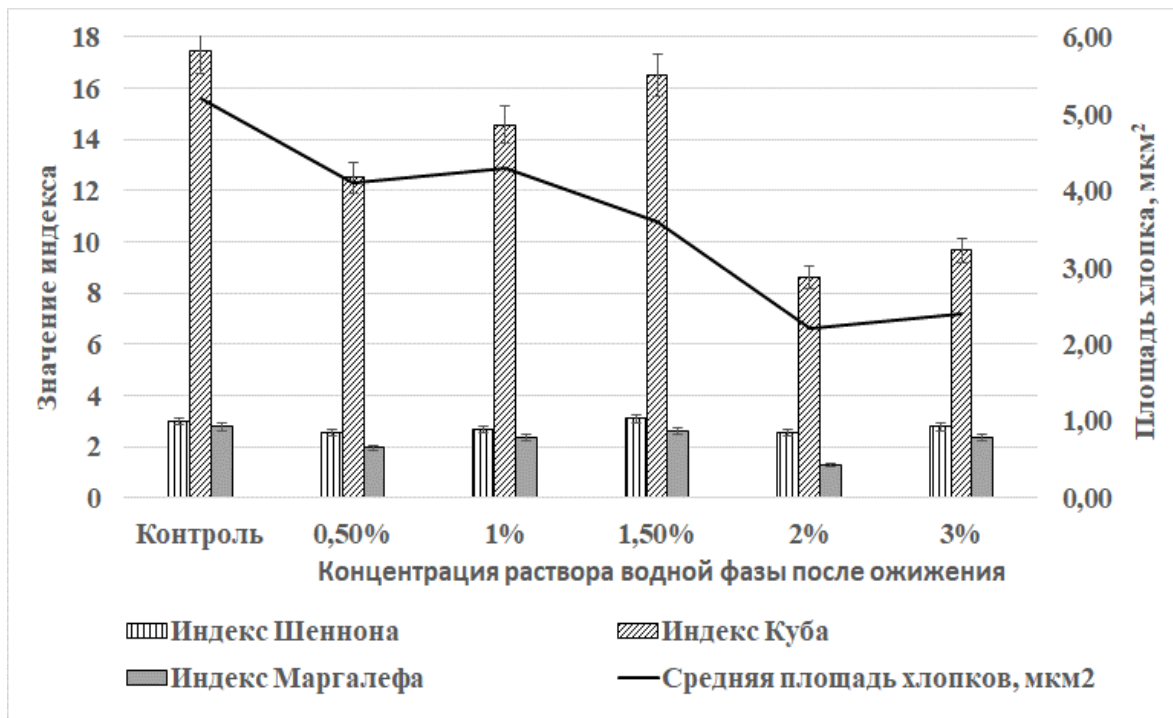


Рисунок 6.4 – Значения индексов биоразнообразия и размеров хлопьев активного ила в ходе периодического культивирования с добавлением водной фазы в различной концентрации

Согласно результатам, представленным на рисунке 6.4, активный ил реагирует на внесение водной фазы в среду даже в минимальной концентрации (0,5 %). Такая чувствительность указывает на наличие в водной фазе токсичных компонентов, способных вмешиваться в метаболические процессы микробного сообщества даже при крайне низких дозировках. Отмечено снижение значений индексов биоразнообразия и уменьшение площади хлопьев активного ила по сравнению с контрольной системой, что может быть связано с наличием нежелательных органических веществ в водной фазе. При этом угнетение роста хлопьев сопровождается нарушением их структурной целостности, что, вероятно, обусловлено подавлением синтеза внеклеточных полимерных веществ под действием загрязнителей. Детальная оценка микроскопических изображений (рисунок 6.5) отражает изменения не только по количеству индикаторных микроорганизмов активного ила, но и их активности.

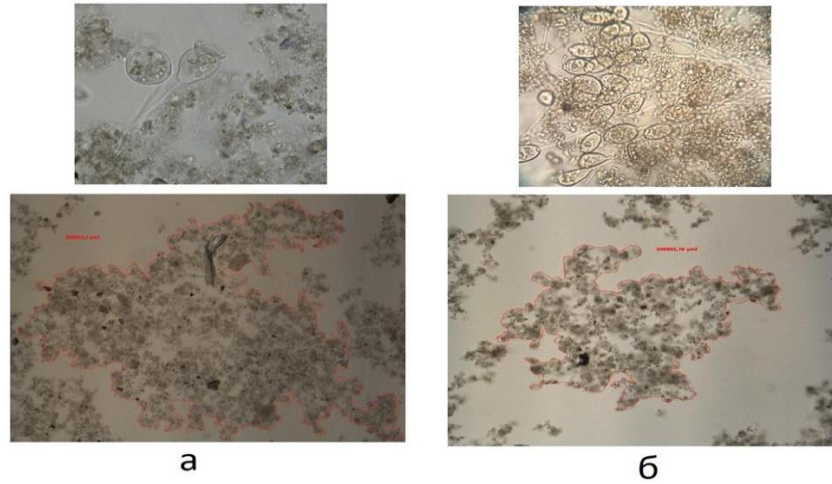


Рисунок 6.5 – Микрофотографии активного ила ($\times 400$, $\times 100$) в контрольной (а) и опытной (б) системах

Изображения, приведенные на рисунке 6.5, указывают на значительные изменения при внесении водной фазы в модельный раствор сточной воды.

Так, прикрепленные инфузории р. *Vorticella* при внесении водной фазы начинают активно размножаться, что свидетельствует о наличии перегрузок по органическим веществам. Интенсивное размножение простейших приводит к разрушениям хлопков активного ила, что может повлечь за собой ухудшение седиментационных свойств активного ила [217].

6.2 Отъемно-доливное культивирование активного ила на водной фазе гидротермального ожижения с коммунально-бытовыми сточными водами

В ходе проведения периодического культивирования была определена концентрация водной фазы в среде культивирования – 1-1,5 % (об.), не подавляющая физиологическую активность микроорганизмов активного ила.

На основании ранее полученных экспериментальных результатов для проведения процесса отъемно-доливного культивирования в модельный раствор сточной воды вносилась водная фаза в следующих концентрациях: 1 %, 1,5 %, 1,8 %. В контрольную систему с активным илом водную фазу не

вносили. В качестве субстрата для активного ила использовался только модельный раствор сточной воды.

Характеристика среды для отъемно-доливного культивирования представлена в таблице 6.5.

Таблица 6.5 – Характеристика модельного раствора сточной воды с водной фазой процесса ГТО для отъемно-доливного культивирования

Концентрация водной фазы, %	ХПК, мгО/дм ³	NH ₄ ⁺ , мг/дм ³	NO ₂ ⁻ , мг/дм ³	NO ₃ ⁻ , мг/дм ³	PO ₄ ³⁻ , мг/дм ³
К	306±12	21,51±2,11	–	–	10,35±1,03
0,5	396±21	32,66±3,04	0,41±0,17	0,16±0,04	13,41±0,31
1,5	434±18	46,39±4,12	0,96±0,11	0,24±0,05	17,71±2,01
1,8	524±69	54,18±2,07	1,22±0,21	0,31±0,01	20,96±2,15

Результаты эффективности удаления органических соединений в ходе отъемно-доливного культивирования показаны на рисунке 6.6.

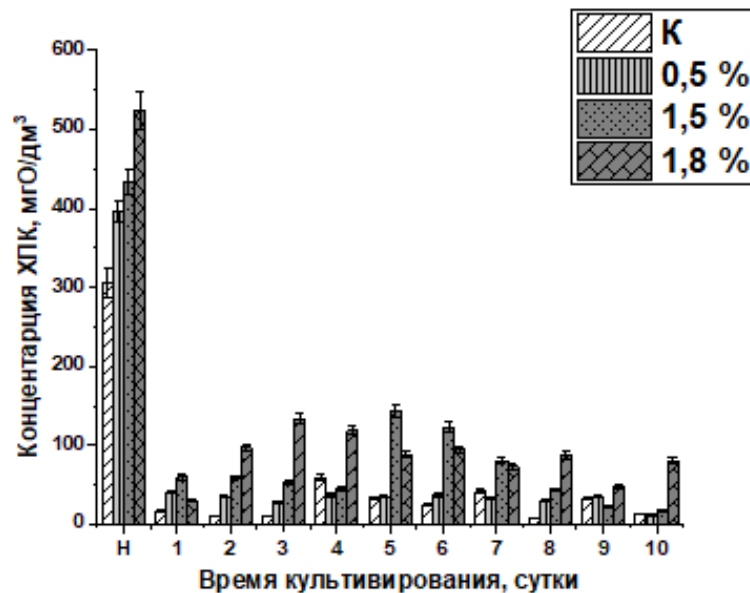


Рисунок 6.6 – Изменение концентрации органических веществ по ХПК в ходе (отъемно-доливного) культивирования с добавлением водной фазы в различной концентрации

Результаты, представленные на рисунке 6.6, свидетельствуют о снижении эффективности удаления органических веществ по ХПК в начальный период времени при увеличении концентрации водной фазы.

Далее, по истечении 6-8 суток отмечалась адаптация активного ила к повышенной нагрузке и компонентам водной фазы. Эффективность удаления органического субстрата по ХПК в среде с концентрацией водной фазы 1,5 % становилась сравнимой с контрольной системой. Было отмечено, что при концентрации водной фазы 1,8 %, начиная со вторых суток культивирования, эффективность деструкции органических соединений, повышалась каждые 24 часа и достигла максимума к 8 суткам культивирования (87,8 %) [218].

В ходе оценки дегидрогеназной активности микроорганизмов активного ила были получены следующие результаты (рисунок 6.7).

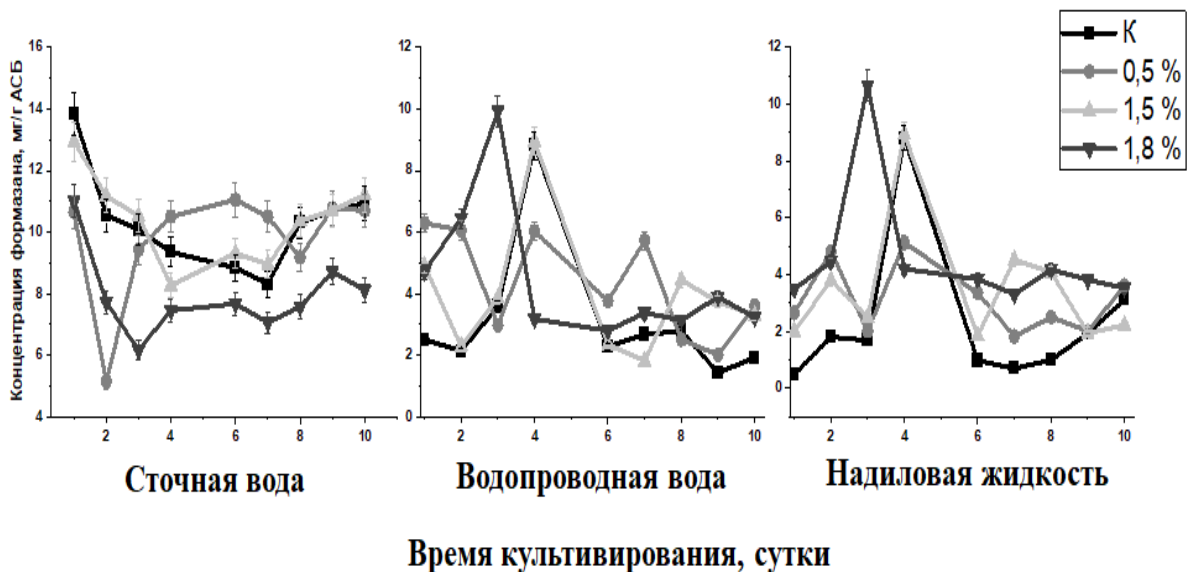


Рисунок 6.7 – Изменение дегидрогеназной активности активного ила в ходе отъемно-доливного культивирования с внесением водной фазы в различной концентрации

Согласно полученным результатам, приведенным на рисунке 6.7, внесение водной фазы в течение 10 суток оказывает незначительное влияние на ферментативную активность микроорганизмов ила. В течение первых 3

суток культивирования наблюдалась высокая дегидрогеназная активность при концентрации водной фазы 1,8 %, что, вероятно, связано с дополнительным субстратом – компонентами водной фазы. Однако, с 4 суток активность стала постепенно снижаться и достигла равновесного значения.

Небольшие изменения ферментативной активности при использовании в качестве субстрата водопроводной воды были отмечены на 4 и 5 сутки культивирования. Можно предположить, что в этот период, микроорганизмы активного ила сорбировали органические соединения из сточной воды, но не полностью их минерализовали, и необходимо было увеличить время очистки водной фазы для полного восстановления свойств активного ила. По прошествии 6-8 суток происходит стабилизация значений дегидрогеназной активности, что может свидетельствовать об окончании процесса адаптации и стабильной работе системы [218].

На рисунке 6.8 показаны результаты биотрансформации азота в течение 10 суток культивирования.

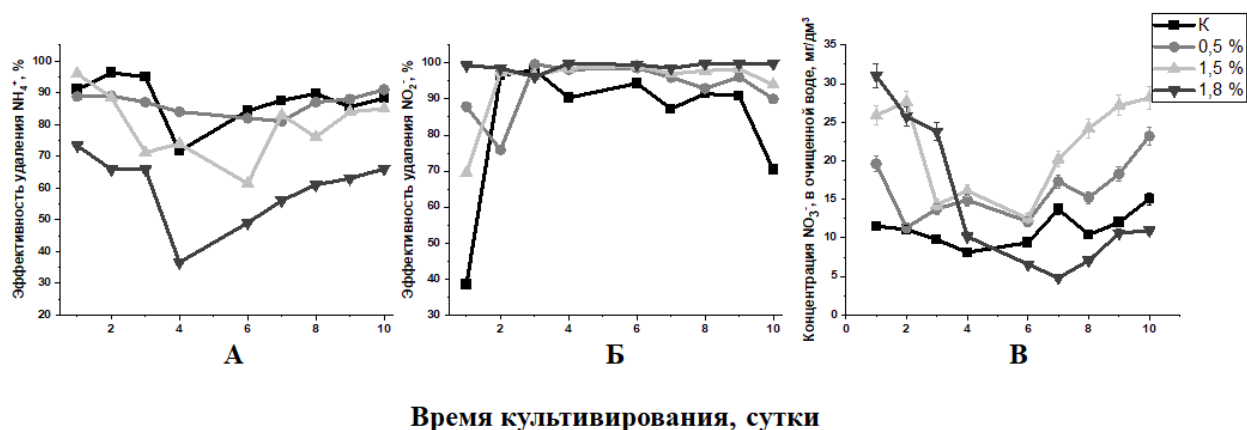


Рисунок 6.8 – Изменение концентрации соединений азота в ходе отъемно-доливного культивирования с добавлением водной фазы различной концентрации: А – эффективность удаления NH₄⁺, Б – эффективность удаления NO₂⁻, В – концентрация NO₃⁻ в очищенной воде

Показано, что компоненты водной фазы отрицательно влияют, в основном, на нитрифицирующие бактерии, нежели на гетеротрофные микроорганизмы. При увеличении концентрации водной фазы до 1,8 % в течение 10 суток культивирования ассимиляция NH_4^+ была ниже, чем при меньших концентрациях водной фазы (62 %) и контрольной системой (92 %). Однако при концентрации водной фазы 0,5 % наблюдалось стабильное протекание процесса биотрансформации NH_4^+ в NO_2^- и далее в NO_3^- , а при концентрации 1,5 % адаптация системы произошла только на 6 сутки культивирования, что коррелирует с результатами по ХПК и дегидрогеназной активности [218].

Для повышения окисления NH_4^+ при более высоких концентрациях водной фазы (1,8 %), необходим длительный (более 10 суток) период адаптации активного ила к специфическим компонентам водной фазы или ее предварительная обработка с использованием сильных окислителей или процессов сорбции.

Биотрансформация NO_2^- протекала стабильно независимо от значений концентрации водной фазы. Согласно литературным данным, содержащиеся в водной фазе гетероциклические азотсодержащие вещества значительно в меньшей степени угнетают ферментативную систему нитрифицирующих микроорганизмов второй стадии [219], так как эти бактерии менее чувствительны к наличию органических соединений в сточной воде [137].

Дефосфатирующая способность активного ила при внесении водной фазы показана на рисунке 6.9.

Результаты, приведенные на рисунке 6.9, показывают снижение эффективности удаления PO_4^{3-} при внесении водной фазы в среду. Можно отметить, что, также, как и в периодическом культивировании, компоненты водной фазы в концентрации 0,5-1,8 % незначительно влияют на процесс удаления фосфора микроорганизмами активного ила. Эффективность удаления PO_4^{3-} варьировала от 55 до 75 % для контрольной среды и от 31 до 72 % для среды с водной фазой. Период адаптации микроорганизмов к

компонентам водной фазы и составлял 6-8 суток аналогично процессу удаления органических веществ по ХПК (рисунок 6.6).

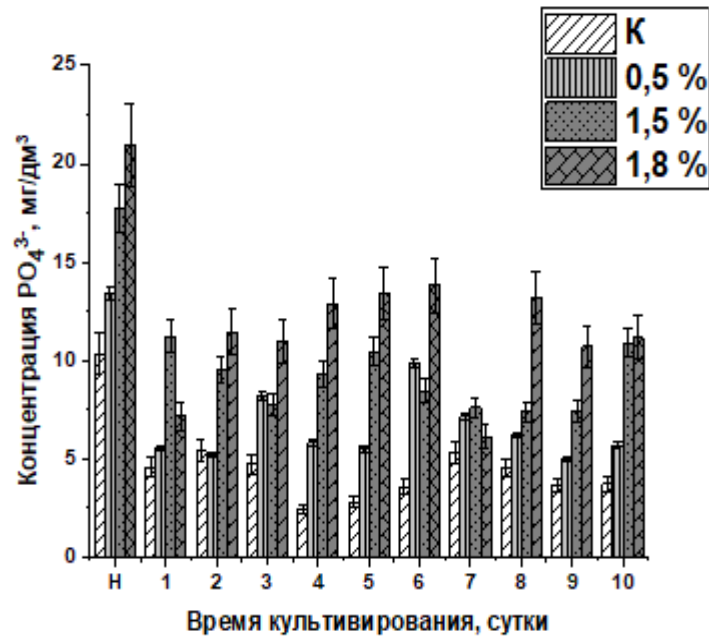


Рисунок 6.9 – Изменение концентрации фосфат-ионов в ходе отъемно-доливного культивирования с добавлением водной фазы различной концентрации

На рисунке 6.10 показаны изменения индексов биоразнообразия при внесении водной фазы в процессе отъемно-доливного культивирования.

Показано, что в ходе 10 суточного культивирования индексы биоразнообразия для среды с концентрацией водной фазы до 1,5 % несущественно отличались от контрольной пробы. Следует предположить, что микробиоценоз активного ила в этом случае проявляет достаточный потенциал адаптации. В отличие от этого, концентрация 1,8 % негативно повлияла на видовое разнообразие, значение индекса Шеннона снизилось на 21 %, по сравнению с начальным значением. Внесение в среду культивирования водной фазы в концентрации 1,8 % площадь хлопьев активного ила также заметно уменьшилась: на 42 % по сравнению со значением для исходного активного ила. В составе биоценоза в этом случае отмечалось активное размножение прикрепленных инфузорий р. *Vorticella* (см рисунок 6.5)

Очевидно, что эти факторы отрицательно сказываются на седиментационных свойствах активного ила и диффузии кислорода для протекания биохимических реакций [217].

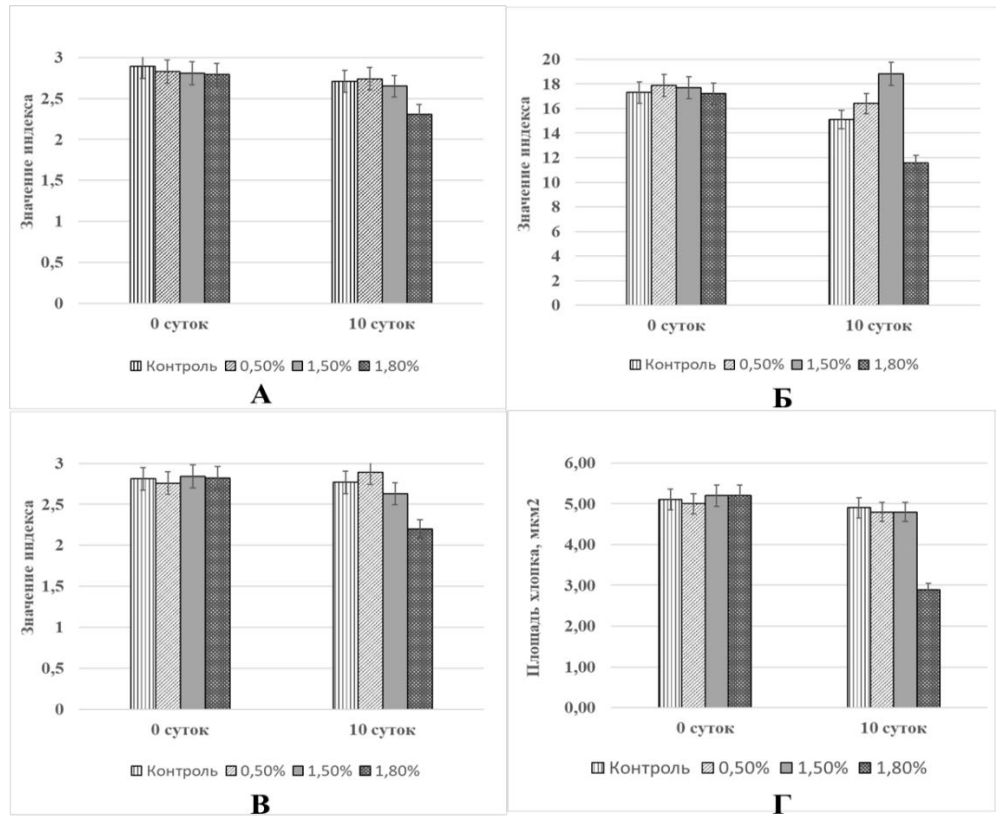


Рисунок 6.10 – Значения индексов биоразнообразия и размеров хлопьев активного ила в процессе отъемно-доливного культивирования с добавлением водной фазы в различной концентрации: А – индекс Шеннона, Б – индекс Куба, В – индекс Маргалева, Г – площадь хлопья

6.3 Техническое предложение по модернизации процесса биологической очистки коммунально-бытовых сточных на примере БОС г. Иннополис

На основании результатов проведенных лабораторных исследований по смешению водой фазы, полученной в ходе гидротермального ожижения органических отходов очистных сооружений (осадков первичных отстойников и избыточного активного ила), с поступающими коммунально-

бытовыми сточными водами – было разработано техническое предложение для БОС г. Иннополис.

Согласно технологическому регламенту в сутки на очистных сооружениях г. Иннополис образуется 0,41 т осадков первичного отстойника и 0,40 т избыточного активного ила (по сухому веществу). Общее количество сырья, которое может быть подвергнуто гидротермальному ожижению в год составляет 295,62 т.

В настоящий момент избыточный активный ил обезвоживают с помощью флокулянтов и вывозят на полигоны захоронения. Интеграция реактора гидротермального ожижения в действующую технологическую схему позволит отказаться от вывоза отходов и получить из них продукты с добавленной стоимостью. На рисунке 6.11 представлена модернизированная принципиальная технологическая схема БОС г. Иннополис с реактором для гидротермального ожижения.

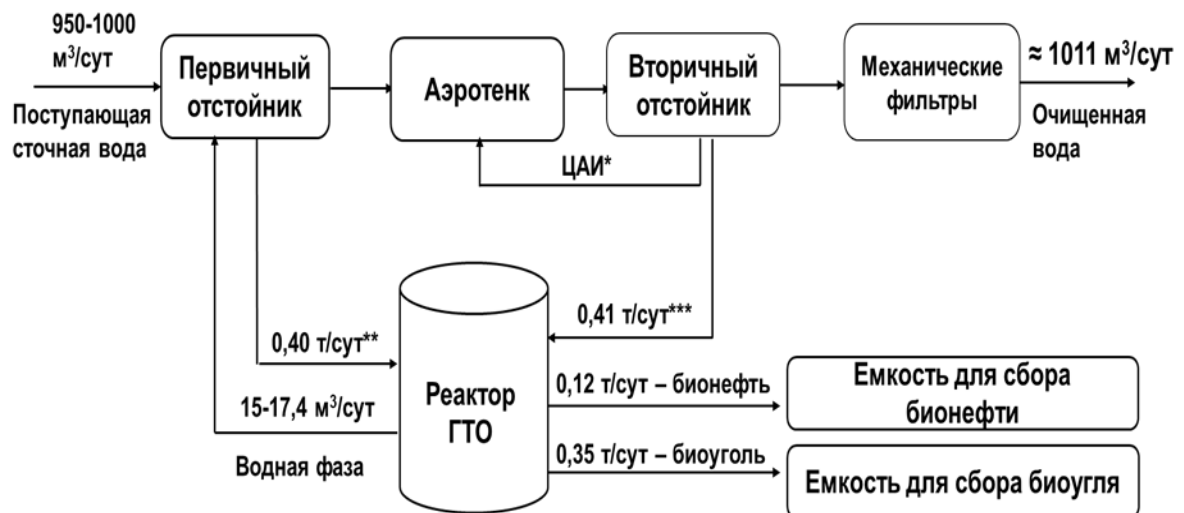


Рисунок 6.11 – Принципиальная технологическая схема БОС г. Иннополис с реактором ГТО, *циркулирующий активный ил, **осадок первичного отстойника, ***осадок вторичного отстойника

Предлагаемая модернизация схемы биологической очистки сточных БОС г. Иннополис, включает узел ГТО обработки осадков первичного

отстойника и избыточного активного ила с возвратом водной фазы в голову биологической очистки. Условия процесса гидротермального ожижения: температура (260 °С), время реакции (20 минут).

В ходе процесса гидротермального ожижения образуются три продукта: органическая нефтяная фаза (бионефть $\approx 0,12$ т/сут), твердая фракция (биоуголь $\approx 0,35$ т/сут), водная фаза (15-17,4 м³/сут) в зависимости от состава и влажности исходных осадков при расходе сточных вод 1000 м³/сут.

Водная фаза в полном объеме поступает в первичный отстойник (для осаждения взвешенных веществ), а затем в денитрификатор/аэротенк где происходит ее смешение с циркулирующим активным илом. Такое технологическое действие позволяет решить несколько проблем: водная фаза является источником легкодоступного углерода (см. главу 3) для денитрифицирующих микроорганизмов активного ила, что полностью исключает потребность во внешнем добавлении легкодоступных органических веществ (глицерина, метанола); повышается ферментативная активность микроорганизмов активного ила в среднем на 12 % (см. рисунок б.1); снижается нагрузка на узел механического обезвоживания осадка за счет выводимой биомассы, а в последующем его полное исключение.

При внедрении технологии ГТО на биологических сооружениях г. Иннополис у предприятия отпадает необходимость платить за вывоз и размещение отходов IV класса опасности (избыточного ила), так как он будет являться сырьем для гидротермального ожижения. Помимо платы за вывоз отходов, у предприятия отпадает необходимость в закупке глицерина для подпитки микроорганизмов активного ила, так как водная фаза содержит в себе легкодоступные органические соединения.

6.4 Выводы по главе 6

В ходе периодического культивирования активного ила на среде, содержащей водную фазу процесса гидротермального ожижения, было

установлено, что повышение концентрации водной фазы до 3 % сопровождалось интенсивным пенообразованием, которое препятствует нормальному функционированию микробиоценозу активного ила и имеет технические ограничения. Для проведения периодического культивирования активного ила были выбраны концентрации вносимой водной фазы: 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 %, 3 % от объема модельного раствора сточной воды.

Оптимальная концентрация водной фазы в условиях острого опыта для проведения биологической очистки раствора составляет до 1,5 % (включительно). При такой концентрации компонентов водной фазы отмечены стабильная деструкция органических соединений, высокая ферментативная активность и удовлетворительное протекание процесса нитрификации.

Увеличение концентрации водной фазы в среде приводило к уменьшению площади (размеров) хлопьев активного ила и, как следствие, ухудшению его седиментационных свойств, подавлению процесса нитрификации, а также сопровождалось низкой скоростью минерализации органических соединений водной фазы.

По результатам 10 суточного процесса отъемно-доливного культивирования активного ила на среде с водной фазой гидротермального ожижения было показано, что процесс следует осуществлять с концентрацией, не превышающей 1,5 %, с учетом периода микробной адаптации 6-8 суток.

Установлено, что повышение концентрации водной фазы до 1,8 % негативно сказывалось на протекании первой стадии процесса нитрификации, а также на видовом разнообразии гидробионтов активного ила.

Сформулировано научно-техническое предложение для БОС г. Иннополис по интеграции процесса гидротермального ожижения в действующую технологическую схему. Внедрение ГТО позволит предприятию утилизировать органические отходы с получением продуктов с добавленной стоимостью. Образующуюся водная фаза будет направляется в первичный отстойник с последующим смешением с поступающими сточными водами и очисткой с активным илом.

ГЛАВА 7. ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВНЕДРЕНИЯ ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ НА ОЧИСТНЫЕ СООРУЖЕНИЯ

Для технико-экономической оценки эффективности результатов, полученных в результате проведенных исследований, были рассмотрены биологические очистные сооружения г. Иннополис (Республика Татарстан). Средний суточный объем сточных вод составляет $Q = 950-1000 \text{ м}^3/\text{сут}$, годовой – $346750 \text{ м}^3/\text{сут}$. Режим работы - непрерывный.

7.1 Расчет капитальных затрат на реализацию проекта

Расчет стоимости основных производственных фондов и амортизацию отчислений проводили согласно известным и апробированным рекомендациям [220,221].

Основные производственные фонды включают в себя здания, оборудование и пуско-наладочные работы. Капитальные затраты на оборудования и их амортизация отображены в таблице 7.1.

Таблица 7.1 – Статьи основных капитальных затрат

Наименование здания и оборудования	Количество, шт	Стоимость, руб.	Амортизационные отчисления	
			Норма, %	Сумма, руб.
Здание	1	1 400 000	2	28 000
Реактор для гидротермального ожигения	1	11 497 000 (по курсу ЦБ РФ на 20.09.2025)	7	1 104 790
Пуско-наладочные работы	-	135 000	-	-
Доставка	-	42 000	-	-
Насос центробежный типа СМ-150-125-315	1	93 400	10	9 340

На основании результатов расчетов основных капитальных затрат (таблица 7.1) была составлена сводная смета капитальных затрат на основные фонды и определена укрупненная структура основных фондов (таблица 7.2).

Таблица 7.2 – Сводная смета капитальных затрат и структура основных фондов

Элементы ОПФ	Стоимость	
	руб.	% к итогу
Здания	1 400 000	10,7
Оборудование	11 590 400	88,0
Прочее	177 000	1,3
Итого:	13 167 400	100

Капитальные вложения (КВ) руб. рассчитываются по формуле 7.1 как сумма стоимости основных производственных фондов (ОПФ) и нормируемых оборотных средств (НОС):

$$КВ = ОПФ + НОС. \quad (7.1)$$

НОС принимаются в размере 5 % от стоимости основных производственных фондов (формула 7.2):

$$НОС = 0,05 \times ОПФ, \quad (7.2)$$

$$НОС = 0,05 \times 13\,167\,400 = 658\,370 \text{ руб.}$$

Общая сумма капиталовложений составляет:

$$КВ = 3\,167\,400 + 658\,370 = 3\,825\,770 \text{ руб.}$$

7.2 Расчет численности персонала и фонда заработной платы

Баланс рабочего времени одного рабочего приведен в таблице 7.3.

Таблица 7.3 – Баланс рабочего времени одного среднесписочного рабочего

Показатели	Для основных рабочих, 12-часовой рабочий день
Календарный фонд времени, $T_{\text{кал}}$	365
Выходные и праздничные дни	179

Продолжение таблицы 7.3

1	2
Номинальный фонд рабочего времени, $T_{ном}$	186
Продолжительность отпуска	28
Выполнение гособязанностей	2
Невыходы, регламентируемые законом	8
Эффективный фонд рабочего времени, $T_{эф}$:	148
в днях	1776
в часах	

Затраты на оплату труда работников включают сумму заработной платы работников; налог на доходы физических лиц; страховые взносы в пенсионный фонд РФ; федеральный фонд обязательного медицинского страхования РФ; федеральный фонд социального страхования РФ.

Тарифы страховых взносов во внебюджетные фонды на 2025 год составили 30 %. Предусмотрены дополнительные тарифы страховых взносов 2 % на страхование производственного травматизма.

Списочное число рабочих определяется по формуле 7.3:

$$P_{сп} = P_{яв} \times (T_{кал}/T_{эф}), \quad (7.3)$$

где $P_{яв}$ – явочное число рабочих в сутки, чел.

$$P_{сп} = 1 \times (365/148) = 3 \text{ чел.}$$

Тарифный фонд заработной платы основных производственных рабочих рассчитывается по формуле 7.4:

$$Z_{тар} = T_{эф} \times Ч_{спис} \times Z_{ч}, \quad (7.4)$$

где $T_{эф}$ – эффективный фонд времени, ч; $Ч_{спис}$ – списочная численность рабочих, чел; $Z_{ч}$ – часовая тарифная ставка рабочих, руб.

$$Z_{тар} = 1776 \times 3 \times 71,00 = 378288 \text{ руб.}$$

Доплата за вечернее время рассчитывается по формуле 7.5:

$$D_{вечер} = Z_{тар} \times 0,5/6, \quad (7.5)$$

$$D_{вечер} = 378288 \times 0,5/6 = 31\,524 \text{ руб.}$$

Доплата за работу в ночное время определяется по формуле 7.6:

$$Z_{\text{ноч}} = (Z_{\text{тар}} \times K_{\text{ноч}})/3, \quad (7.6)$$

где $K_{\text{ноч}}$ – коэффициент доплат к тарифной ставке за ночное время – 1,5

$$Z_{\text{ноч}} = (378288 \times 1,5)/3 = 189\,144 \text{ руб.}$$

Доплата за работу в праздничные дни:

$$Z_{\text{празд}} = 24 \times 15 \times (1 \times 71,00) = 25\,560 \text{ руб.}$$

Фонд основной заработной платы состоит из тарифного фонда и всех доплат определяется по формуле 7.7:

$$Z_{\text{год}} = Z_{\text{тар}} + D_{\text{вечер}} + Z_{\text{ноч}} + Z_{\text{праздн}}, \quad (7.7)$$

$$Z_{\text{год}} = 378\,288 + 31\,524 + 189\,144 + 25\,560 = 624\,516 \text{ руб.}$$

Обязательные страховые взносы (ОбСВ) составляют 32 % от годового фонда заработной платы (формула 7.8).

$$\text{ОбСВ} = Z_{\text{год}} \times 0,32, \quad (7.8)$$

$$\text{ОбСВ} = 624\,516 \times 0,32 = 199\,845,12 \text{ руб.}$$

7.3 Расчет годового расхода на электроэнергию

Расчет затраченной электроэнергии на работу реактора гидротермального ожижения и насосов производили по формуле 7.9:

$$\mathcal{E}_{\text{теор}} = N \times t, \quad (7.9)$$

где $\mathcal{E}_{\text{теор}}$ – суммарная мощность насосов и установки для гидротермального ожижения, кВт; t – время работы оборудования, ч.

$$\mathcal{E}_{\text{теор}} = 70 \times 30 \times 365 = 766500 \text{ кВт/ч.}$$

Расчет годового расхода электроэнергии на двигательные цели производится по формуле 7.10:

$$\mathcal{E}_{\text{дв}} = (\mathcal{E}_{\text{теор}} \times K_{\text{спр}}) / (K_{\text{эл.сети}} \times K_{\text{дв}}), \quad (7.10)$$

где $\mathcal{E}_{\text{теор}}$ – годовой расход электроэнергии, кВт/ч; $K_{\text{спр}}$ – коэффициент спроса, учитывающий неравномерность работы двигателей (0,8); $K_{\text{эл.сети}}$ – коэффициент потерь в электросети (0,97); $K_{\text{дв}}$ – коэффициент потерь в электродвигателе (0,95).

$$\mathcal{E}_{\text{дв}} = (766500 \times 0,80) / (0,97 \times 0,95) = 665436,78 \text{ кВт/ч.}$$

Стоимость электроэнергии в год на работу реактора гидротермального ожижения рассчитывали по формуле 7.11:

$$P_9 = \mathcal{E}_{\text{дв}} \times m_9, \quad (7.11)$$

где m_9 – стоимость одного кВт×ч электроэнергии, равная 5,5 рублей.

$$P_9 = 665436,78 \times 5,50 = 3\,812\,952 \text{ руб.}$$

7.4 Расчет прибыли и периода окупаемости технологии гидротермального ожижения избыточного активного ила

Результаты расчета продуктов с добавленной стоимостью, которые можно получить в ходе гидротермального ожижения органических отходов на очистных сооружениях г. Иннополис, представлены в таблице 7.4. За единицу стоимости товарной продукции бионефти была взята цена на нефть-сырец, для оценки стоимости биоугля - средняя цена каменного угля.

Таблица 7.4 – Стоимость продуктов, полученных в ходе гидротермального ожижения органических отходов

Наименование продукта	Единица измерения	Годовая выработка	Цена, руб./единицу	Сумма, руб.
Бионефть	т	44,34	38 013	1 685 782
Биоуголь	т	130,08	6 000	780 516
Углеродные единицы	шт	114,01	1 000	114 017
Итого				2 580 315

Ставка налога на доход в РФ от продажи продукции составляет 20 %.

Уплаченный налог (Н) от продажи продуктов, полученных в ходе гидротермального ожижения органических отходов, рассчитывается по формуле 7.12:

$$H = П \cdot С, \quad (7.12)$$

где Π – прибыль предприятия от продажи продуктов; C – налоговая ставка равна 20 %.

$$H = 2\,580\,315 \times 0,20 = 516\,063,0 \text{ руб.}$$

В таблице 7.5 показано снижение эксплуатационных затрат от внедрения технологии гидротермального ожижения на очистных сооружениях.

Таблица 7.5 – Снижение эксплуатационных затрат от внедрения технологии гидротермального ожижения избыточного активного ила

Наименование продукта	Единица измерения	Годовая выработка	Цена, руб./единицу	Сумма, руб.
Затраты на глицерин	т	46	216 000	+ 9 936 000
Вывоз отходов	т	295,62	1000	+ 295 600
Итого				+ 10 231 600

Итого общий годовой доход от внедрения ГТО на очистных сооружениях г. Иннополис составит: 12 295 852 рублей (за счет снижения эксплуатационных затрат и продажи продукции).

Для оценки экономической эффективности проекта в долгосрочной перспективе были рассчитаны такие показатели как чистая приведенная стоимость; внутренняя норма доходности; индекс доходности; период окупаемости проекта [222, 223]. Горизонт оценки составил 10 лет (2025-2035 г.г.), средняя ставка дисконтирования – 12 %.

Операционные расходы (ОРЕХ) состоят из фонда оплаты труда рабочим, обслуживающим установку и затрат на электроэнергию работы реактора гидротермального ожижения (формула 7.13).

$$\text{ОРЕХ} = Z_{\text{год}} + \text{ОбСВ} + P_3 + H,$$

$$\text{ОРЕХ} = 624\,516 + 199\,845 + 3\,812\,952 + 327\,796,0 = 4\,965\,109,39 \quad (7.13)$$

руб.

В таблице 7.6 показаны капитальные и операционные затраты, а также годовой доход согласно вышеописанным расчетам.

Таблица 7.6 – Начальные показатели оценки инвестиционного проекта

Капиталовложения, млн. руб.	13,82
Операционные расходы, млн. руб.	4,96
Денежный доход, млн. руб.	12,29
Ставка дисконтирования, %	12
Временной горизонт, лет	10

Чистую приведенную стоимость рассчитывали с помощью функции «ЧПС» с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2019, используя в качестве массива данных дисконтированный денежный поток за период 10 лет.

С учетом начальных показателей чистая приведенная стоимость за 10 лет составила 12,97 млн. рублей. График изменения NPV показана на рисунке 7.1.

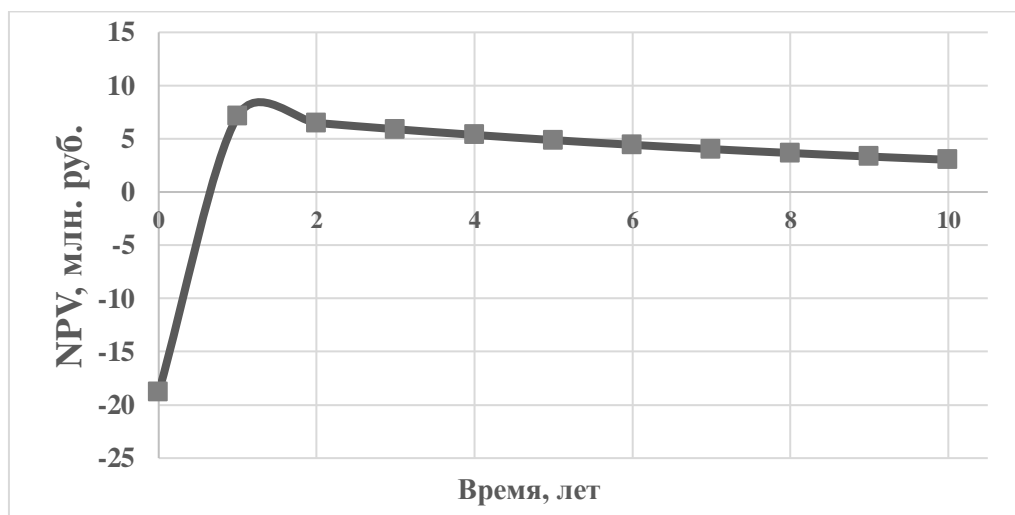


Рисунок 7.1 – Изменение чистой приведенной стоимости в течение 10 лет

Внутреннюю норму доходности определяли с помощью функции «ВСД» с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2019, используя в качестве массива данных дисконтированный денежный поток за период 10 лет.

С учетом начальных показателей и чистой приведенной стоимости показатель внутренней нормы доходности составил 28 %. Полученное значение свидетельствует о том, что инвестиции будут выгодны, если ставка дисконтирования не будет превышать 28 %.

Для расчета периода окупаемости проекта анализировали зависимость денежного потока от времени реализации проекта рисунок 7.2.

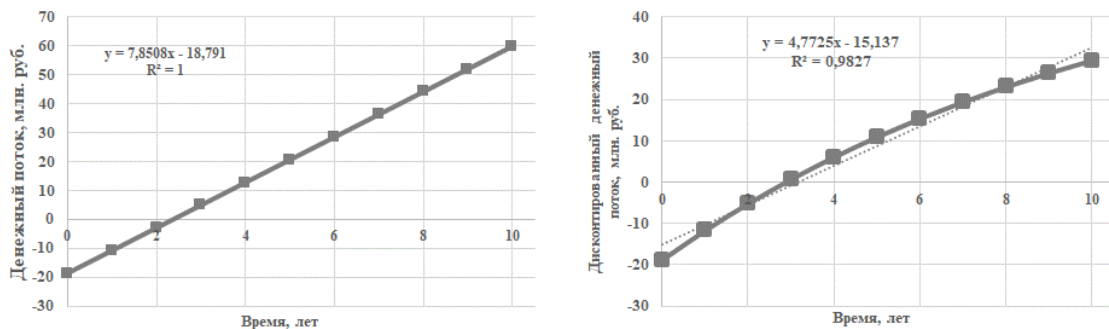


Рисунок 7.2 – Изменение денежного потока на протяжении 10 лет: слева – без учета ставки дисконтирования, справа – с учетом ставки дисконтирования

На основании полученной зависимости был рассчитан период окупаемости проекта по внедрению технологии гидротермального оживления на очистные сооружения г. Иннополис, который составил 2,40 (29 месяцев), с учетом ставки дисконтирования – 3,16 (38 месяцев).

Рассчитанные экономические показатели сведены в таблицу 7.7.

Таблица 7.7 – Показатели экономической эффективности технологии гидротермального оживления на очистных сооружениях г. Иннополис

Показатель	Единица измерения	Значение
Чистая приведенная стоимость	млн. руб.	12,97
Индекс доходности проекта	руб./руб.	1,56
Внутренняя норма доходности	%	28
Период окупаемости	мес.	38

7.5 Расчет предотвращенного экологического ущерба окружающей природной среде от сброса водной фазы

Предотвращенный экологический ущерб окружающей среды от модернизации технологической схемы БОС г. Иннополис с интеграцией реактора гидротермального охижения связан с отсутствием необходимости предприятия платить за размещение отходов IV класса опасности (осадки первичных отстойников, избыточный активный ил) и за сброс водной фазы в природный водоем.

Согласно распоряжению правительства РФ от 01.09.2025 N 2409 [224] ставка за размещение отходов IV класса опасности составляет 1088,30 рублей за тонну. Годовая выработка отходов IV класса опасности на очистных сооружениях составляет 295,62 тонны. Предотвращенный экологический ущерб от складирования отходов IV класса опасности определяется по формуле 7.14:

$$Y_{\text{пр}}^{\text{от}} = m_{\text{от}} \times 1088,3, \quad (7.14)$$

где $Y_{\text{пр}}^{\text{от}}$ – предотвращенный экологический ущерб за размещение отходов, руб.; $m_{\text{от}}$ – масса отходов, тонн; 1088,3 ставка за размещение отходов IV класса.

$$Y_{\text{пр}}^{\text{от}} = 295,62 \times 1088,3 = 321\,723,24 \text{ руб./год.}$$

Предотвращенный экологический ущерб от размещения отходов IV класса опасности в случае интеграции реактора гидротермального охижения на БОС г. Иннополис составит 321 723,24 руб./год.

Для расчета предотвращенного экологического ущерба в результате биологической очистки водной фазы гидротермального охижения с активным илом использовали стандартную методику [225].

Сточная вода, полученная в результате смешения потока сточной воды г. Иннополис с водной фазой гидротермального охижения избыточного

активного ила, имеет следующий состав: ХПК – 434 мгО/дм³; NH₄⁺ – 46,39 мг/дм³; PO₄³⁻ – 17,71 мг/дм³; NO₂⁻ – 0,96 мг/дм³.

После ее биологической очистки на очистных сооружениях г. Иннополис экспериментально определенные концентрации загрязняющих веществ в очищенной сточной воде составили: ХПК – 21 мгО/дм³; NH₄⁺ – 2,29 мг/дм³; PO₄³⁻ – 4,61 мг/дм³; NO₂⁻ – 0,48 мг/дм³.

Определение величины годового предотвращенного ущерба водным ресурсам было проведено в расчете на одну условную тонну загрязняющего вещества по формуле 7.15:

$$U_{\text{пр}}^{\text{В}} = U_{\text{вуд}} \times M^{\text{В}} \times K_{\text{э,р}}^{\text{В}}, \quad (7.15)$$

где $U_{\text{пр}}^{\text{В}}$ – сумма предотвращённого ущерба водным ресурсам в рассматриваемом регионе (Республика Татарстан), тыс. руб./год; $U_{\text{вуд}}$ – показатель удельного ущерба водным ресурсам, определяется в соответствии с таблицей 1 приложения 1 [222], $U_{\text{вуд}} = 9832,3$ руб.; $M^{\text{В}}$ – масса загрязняющих веществ, сброшенных в водную среду (тонн); $K_{\text{э,р}}^{\text{В}}$ – коэффициент экологической ситуации и состояния водных объектов в регионе, $K_{\text{э,р}}^{\text{В}} = 1,3$.

Масса загрязняющих веществ определялась по формуле 7.16:

$$M^{\text{В}} = \sum A_i \times m_i, \quad (7.16)$$

где A_i – показатель относительной опасности сброса в водоем i -го вещества, усл.т/т; m_i – масса годового сброса в водоем i -го вещества, т/год.

Значение A – связано с величиной ПДК_{вр} соотношением 7.17:

$$A_i = \frac{1}{\text{ПДК}_{\text{вр}}}, \quad (7.17)$$

где ПДК_{вр} – предельно допустимая концентрация i -го загрязняющего вещества в воде рыбохозяйственных объектов.

Количество поступающего в водохозяйственный участок i -го загрязняющего вещества зависит от объема годового сброса сточных вод источниками загрязнения и от концентрации i -го загрязняющего вещества в источниках загрязнения 7.18:

$$m_i = \sum c_{ij} \times V_{ij}, \quad (7.18)$$

где c_{ij} – концентрация i -го загрязнителя в j -м источнике загрязнения г/м³; V_{ij} – годовой сброс i -го загрязнителя j -м источником загрязнения, м³/год.

Объем водной фазы, образующийся при гидротермальном ожигении органических отходов очистных сооружений г. Иннополис составляет 17,4 м³/сут или 6 351 м³/год. Соответственно, при смешении водной фазы со сточными водами БОС Иннополис средний расход составит 1017,4 м³/сут или 371 351 м³/год.

Результаты расчета предотвращенного эколого-экономического ущерба до и после биологической очистки водной фазы гидротермального ожигения представлены в таблицах 7.8 и 7.9.

Таблица 7.8 – Приведенные величины годового сброса водной фазы

Компоненты водной фазы	Показатель относительной опасности сброса A_i , усл. т/т	Масса годового сброса в водоем m_i , т/год	Приведенная масса годового сброса M^B , усл.т/год	Ущерб, $У1_{пр}^B$ руб./год
ХПК	0,03	161,10	5,37	68 639,85
NH_4^+	2	17,22	34,44	440 212,37
PO_4^{3-}	5	6,57	32,87	420 142,33
NO_2^-	12,5	0,35	4,45	56 936,28
Итого:				985 930,83

Таблица 7.9 – Приведенные величины годового сброса водной фазы после биологической очистки

Компоненты водной фазы	Показатель относительной опасности сброса A_i , усл. т/т	Масса годового сброса в водоем m_i , т/год	Приведенная масса годового сброса M^B , усл.т/год	Ущерб, $У2_{пр}^B$ руб./год
ХПК	0,03	11,51	0,38	4 904,77
NH_4^+	2	0,85	1,70	21 739,23
PO_4^{3-}	5	1,71	8,55	109 408,1
NO_2^-	12,5	0,17	2,28	28 479,34
Итого:				164 531,50

Предотвращенный экологический ущерб от биологической очистки водной фазы составил: $U_{\text{пр}}^{\text{В}} = U1_{\text{пр}}^{\text{В}} - U2_{\text{пр}}^{\text{В}} = 985\,930,83 - 164\,531,50 = 821\,339,40$ руб./год.

Суммарный предотвращенный экологический ущерб модернизации технологической схемы БОС г. Иннополис путем внедрений реактора гидротермального охижения составляет: $U_{\text{пр}} = U_{\text{пр}}^{\text{В}} + U_{\text{пр}}^{\text{от}} = 821\,339,30 + 321\,723,24 = 1\,143\,062,54$ руб./год.

7.6 Выводы по главе 7

Рассчитаны капитальные и операционные затраты внедрения технологии гидротермального охижения на очистных сооружениях г. Иннополис.

Оценен период окупаемости и полученная прибыль от реализации реактора гидротермального охижения за счет продажи продуктов с добавленной стоимостью (бионефть, биоуголь). По значению индекса $PI \geq 1$ сделан вывод об инвестиционной привлекательности проекта на протяжении 10 лет и окупаемости проекта. Период окупаемости с учетом ставки дисконтирования составит 38 месяца.

Предотвращенный экологический ущерб от модернизации технологической схемы путем внедрения ректора ГТО составляет 1 143 062,54 руб./год за счет отсутствия необходимости складирования отходов IV класса опасности и биологической очистки водной фазы путем ее смешения с поступающими коммунально-бытовыми сточными водами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определены значения физико-химических показателей водной фазы гидротермального ожижения органических осадков очистных сооружений. Среднее содержание органических соединений водной фазы по ХПК составило 11590 ± 573 мгО/дм³, большая часть из которых являются биологически разлагаемыми (БП = 0,59). Помимо органических веществ, в водной фазе присутствует большое количество биогенных элементов: NH_4^+ – 1610 ± 31 мг/дм³; PO_4^{3-} – 843 ± 55 мг/дм³. Согласно изучению качественного состава, в водной фазе были обнаружены различные классы органических соединений: карбоновые кислоты, ароматические соединения, азотосодержащие гетероциклические соединения.

2. Получены 11 изолятов (S1-S11) бактерий деструкторов компонентов водной фазы из активного ила очистных сооружений ПАО «Нижекамскнефтехим». Показано, что по фенотипическим и физиолого-биохимическим признакам изоляты S1-S11 относятся к различным таксономическим группам. Экспериментально показано, что в процессе 48 часов периодического культивирования наиболее активными были изоляты S2, S7, S11, их эффективность деструкции органических веществ по снижению показателя ХПК составила 69, 73, и 75 % соответственно. Согласно полученной нуклеотидной последовательности изолят S2 имеет наибольший уровень сходства с *Pseudomonas glycinae* (99,52 %); тогда как штаммы S7 и S11 близки к *Paenarthrobacter nicotinovorans* (99,8 %) и *Comamonas testosteroni* (99,6 %), соответственно.

3. Установлено, что эффективность удаления органических соединений из водной фазы в биосорбционной системе с применением цеолита и культур *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* составила 81 %. Максимальное удаление NH_4^+ составило 41 %, PO_4^{3-} 99 % по сравнению с начальными значениями.

4. Показано, что В течение 17 суток двухэтапного последовательного культивирования бактериальных культур и микроводорослей концентрация

органических соединений снизилась с 2554 ± 122 до 327 ± 14 мгО/дм³, NH₄⁺ с $289,8 \pm 14,9$ до $51,1 \pm 2,22$ мг/дм³, PO₄³⁻ с $116 \pm 8,1$ до $11,3 \pm 0,2$ мг/дм³. Такой подход может быть рекомендован для предварительной очистки водной фазы на локальных очистных сооружениях.

5. Установлена возможность совместной биологической очистки водной фазы с коммунально-бытовыми сточными водами БОС г. Иннополис. Концентрация водной фазы составила 1,5 % от объема сточных вод с достижением максимальной эффективности очистки по ХПК 95 %, стабильного протекания процесса нитрификации (KN=0,54), а также обеспечением удовлетворительных седиментационных свойств активного ила (иловый индекс – 104 см³/г).

6. Предложена модернизация технологической схемы БОС г. Иннополис с интеграцией в нее процесс гидротермального охижения. В ходе гидротермального охижения избыточного активного ила, предприятие будет получать 0,12 т/сут нефти сырца и 0,35 т/сут биоугля. Расчетное количество водной фазы, образующейся на очистных сооружениях, составляет 15-17,4 м³/сут, которая будет направляется в первичный отстойник с последующем смешением с поступающей сточной водой.

Предотвращенный экологический ущерб от интеграции процесса ГТО составил 1 143 тыс. руб./ год. Модернизация технологической схемы является выгодной (PI = 1,56), средний срок окупаемости составит 38 месяцев, чистый дисконтированный доход за 10 лет – около 13 млн. руб. в год.

Разработанные в диссертации подходы к обезвреживанию водной фазы позволят продвинуться в решении задач экологически безопасной утилизации осадков сточных вод и избыточных илов с использованием биотехнологических методов для получения продуктов с добавленной стоимостью и уменьшения площади территорий, занятых илонакопителями.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

16S рРНК – 16S рибосомальная рибонуклеиновая кислота

АСБ – абсолютно сухая биомасса

БОС – биологические очистные сооружения

БОСВ – биологическая очистка сточных вод

БПК – биологическое потребление кислорода

БЭС – биоэлектрические системы

ГТГ – гидротермальная газификация

ГТК – гидротермальная карбонизация

ГТО – гидротермальное ожижение

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИИ – избыточный ил

КВ – капитальные вложения

МТЭ – микробный топливный элемент

НОС – нормируемые оборотные средства

ООУ – общий органический углерод

ОП – оптическая плотность

ОПО – осадок первичных отстойников

ОПФ – основной производственный фонд

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ХПК – химическое потребление кислорода

ЯМР – спектроскопия ядерного магнитного резонанса

D₂O – оксид дейтерия

DMSO – Dimethyl sulfoxide (диметилсульфоксид)

KN – коэффициент нитрификации

NCBI – National Center for Biotechnology Information

ОРЕХ – Operating expenses (операционные расходы)

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Потапова А.Ю. Проблемы накопления осадков сточных вод на территории канализационных очистных сооружений / А.Ю. Потапова, О.А. Бархатова // Известия Иркутского государственного университета. – 2024. – Т. 48. – С. 57-73;
2. Prestigiaco C. Hydrothermal liquefaction of wet biomass in batch reactors: Critical assessment of the role of operating parameters as a function of the nature of the feedstock / C. Prestigiaco, O. Scialdone, A. Galia // The journal of Supercritical Fluids. – 2022. – Vol. 189 (105689);
3. Talta H. Coupling hydrothermal liquefaction and anaerobic digestion for waste biomass valorization: A review in context of circular economy / H. Talta, S. Ismail, M. Khan [et al.] // Chemosphere. – 2024. – Vol. 361 (142419);
4. Doren L. Prospects for energy recovery during hydrothermal and biological processing of waste biomass / L. Doren, R. Posmanik, F. Bicalho [et al.] // Bioresource Technology. – 2017. – Vol. 225. – P. 67-74;
5. Ксенофонтов Б.С. Биологическая очистка сточных вод / Б.С. Ксенофонтов. – М.: Инфра-М, 2023 - 255 с;
6. Luo J. A holistic valorization of treasured waste activated sludge for directional high-valued products recovery: Routes, key technologies and challenges / J. Luo, C. Zhao, W. Huang [et al.] // Environmental Research. – 2024. – Vol. 262 (119904);
7. Li Z. Co-pyrolysis of sewage sludge with polyvinyl chloride (PVC)/CaO: Effects on heavy metals behavior and ecological risk / Z. Li, Y. Hang, Z. Zhu [et al.] // Fuel. – 2023. – Vol. 223 (126281);
8. Kacprzyk M. Sewage sludge disposal strategies for sustainable development / M. Kacprzyk, E. Neczaj, K. Fijalkowski [et al.] // Environmental Research. – 2017. – Vol. 156. – P. 39-46;
9. Vrablova M. Co-composting of sewage sludge as an effective technology for the production of substrates with reduced content of pharmaceutical residues /

M. Vrablova, K. Smutna, K. Chamradova [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2024. – № 10. – Vol. 915 (169818);

10. Chaudhary Y. K. Identifying ranges of combined lime and heat treatments to achieve biosolids stabilization fecal coliform targets / Y. K. Chaudhary, H. L. Gough // *Journal of Environmental Management*. – 2021. – Vol. 282 (111900);

11. Liew C. A review on recent disposal of hazardous sewage sludge via anaerobic digestion and novel composting / C. Liew, N. Yunus, B. Chidi [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2022. – Vol. 423 (126995);

12. Zhen G. Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application and future perspectives / G. Zhen, X. Lu, H. Kato [et al.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2017. – Vol. 69. – P. 559-577;

13. Cai M. Metagenomic Reconstruction of Key Anaerobic Digestion Pathways in Municipal Sludge and Industrial Wastewater Biogas-Producing Systems / M. Cai, D. Wilkins, J. Chen [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 6. – P. 1-12;

14. Guo J. Dissecting microbial community structure and methane-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing / J. Guo, Y. Peng, B. Ni [et al.] // *Microbial Cell Factories*. – 2015. – Vol. 33. – P. 1-11;

15. Schere P. Methano-compost, a booster and restoring agent for thermophilic anaerobic digestion of energy crops / P. Schere, L. Neumann // *Biomass and Bioenergy*. – 2013. – Vol. 56. – P. 471-478;

16. Cronin D.J. Sustainable Aviation Fuel from Hydrothermal Liquefaction of Wet Wastes / D. J. Cronin, S. Subramaniam, C. Brady [et al.] // *Energies*. – 2022. – Vol. 15. – P. 1-17;

17. Mayer F. Economic and environmental life cycle assessment of organic waste treatment by means of incineration and biogasification. Is source segregation of biowaste justified in Germany? / F. Mayer, R. Bhandari, S. Gath [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2020. – Vol. 721 (137731);

18. Lji H. Occurrence and dissipation mechanism of organic pollutants during the composting of sewage sludge: A critical review / H. Lji, X. Chen, C. Mo [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2021. – Vol. 328 (124847);
19. Yin J. A review of the definition, influencing factors, and mechanisms of rapid composting of organic waste / J. Yin, M. Xie, X. Yu [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2024. – Vol. 342 (123125);
20. Неклюдов А.Д. Интенсификация процесса компостирования при помощи аэробных микроорганизмов / А.Д. Неклюдов, Г.Н. Федотов // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2008. – Т. 44. – № 1. – С. 9-23;
21. Ножевникова А.Н. Состав микробного сообщества на разных стадиях компостирования, перспектива получения компоста из муниципальных органических отходов (обзор) / А.Н. Ножевникова, В.В. Миронов, Е.А. Бочкова [и др.] // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2019. – Т. 55. - № 3. – С. 211-221;
22. Сибиева Л.М. Биотехнологические свойства активного ила в процессах совместной биологической и реагентной очистки сточных вод и его утилизация дис. ... канд. тех. наук: 03.01.06 // Сибиева Линиза Мансуровна; науч. рук. А.С. Сироткин; ФГБОУ ВО КНИТУ. – Казань, 2019. – 153 с.;
23. Ларина О.М. Экспериментальные исследования особенностей пиролизической переработки органических отходов жизнедеятельности в синтез-газ дис. ... канд. тех. наук: 05.14.01 // Ларина Ольга Михайловна; науч. рук. В.М. Зайченко; ФГБОУ ОИВТ РАН. – Москва, 2017. –156 с.;
24. Gao N. Thermochemical Conversion of Sewage Sludge: A Critical Review / N. Gao, K. Kamran, C. Quan [et al.] // *Progress in Energy and Combustion Science*. – 2020. – Vol. 79 (100843);
25. Liu Z. The state of technologies and research for energy recovery from municipal wastewater sludge and biosolids / Z. Liu, B. Mayer, K. Venkiteshwaran // *Current Opinion in Environmental Science & Health*. – 2020. – Vol. 14. – P. 31-36;

26. Liu Z. Characteristics and applications of biochars derived from wastewater solids / Z. Liu, S. Singer, Y. Tong [et al.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2018. – Vol. 90. – P. 650-664;
27. Pecchi M. Coupling anaerobic digestion with gasification, pyrolysis or hydrothermal carbonization: A review / M. Pecchi, M. Baratieri // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2019. – Vol. 105. – P. 462-475;
28. Zhou H. Anaerobic digestion of aqueous phase from pyrolysis of biomass: Reducing toxicity and improving microbial tolerance / H. Zhou, R. Brown, Z. Wen // *Bioresource Technology*. – 2019. – Vol. 292 (121976);
29. Wen C. Feasibility of anaerobic digestion as a treatment for the aqueous pyrolysis condensate (APC) of birch bark / C. Wen, C. Moreira, L. Rehmann, F. Berruti // *Bioresource Technology*. – 2020. – Vol. 307 (123199);
30. Jiang C. Thermochemical methods for the treatment of municipal sludge / C. Jiang, D. Xu, B. Hao [et al.] // *Journal of Cleaner Production*. – 2021. – Vol. 311 (127811);
31. Hao X. Sustainable disposal of excess sludge: Incineration without anaerobic digestion / X. Hao, Q. Chen, M. Loosdrecht [et al.] // *Water Research*. – 2020. – Vol. 170 (115298);
32. Xu Z. Effect of hydrothermal carbonization on dewatering performance of dyeing sludge / Z. Xu, J. Zhou, Y. Liu [et al.] // *RSC Advances*. – 2018. – Vol. 8. – P. 38574-38581;
33. Cheikwafa J. Effect of temperature on hydrothermal liquefaction of high lipids and carbohydrates content municipal primary sludge / J. Cheikwafa, K. Glinska, E. Torrens, C. Bengoa // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10. – P. 1-16;
34. Shabeik H. Synthesis of liquid biofuels from biomass by hydrothermal gasification: A critical review / H. Shahbeik, W. Peng, H. Panahi [et al.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2022. – Vol. 167 (112833);
35. Zhang Y. Treatment of municipal sludge by hydrothermal oxidation process with H₂O₂ / Y. Zhang, S. Zhang, H. Li [et al.] // *Chemosphere*. – 2020. – Vol. 257 (127140);

36. Ipiales R.P. Integration of Hydrothermal Carbonization and Anaerobic Digestion for Energy Recovery of Biomass Waste: An Overview / R. P. Ipiales, M. A. Rubia, E. Diaz [et al.] // *Energy & Fuels*. – 2021. Vol. 35. – P. 17032-17050;
37. Devi P. Value-added hydrochar recovery from anaerobic digestate for environmental applications / P. Devi, H. Liu, I. A. Basar, C. Eskicioglu // *Anaerobic Digestate Management*. – 2022. – P. 189-224;
38. Elliott D. Catalytic hydrothermal gasification of biomass / D. Elliott // *Biofuels*. – 2008. – Vol. 2. – P. 254-265;
39. Basar I.A. Effects of municipal sludge composition on hydrothermal liquefaction products: Aqueous phase characterization and biodegradability assessment / I.A. Basar, H. Liu, C. Eskicioglu // *Bioresource Technology*. – 2024. – Vol. 400 (130671);
40. Watson J. Valorization of hydrothermal liquefaction aqueous phase: pathways towards commercial viability / J. Watson, T. Wang and B. Si [et al.] // *Progress in Energy and Combustion Science*. – 2020. – Vol. 77 (100819);
41. Mau V. Nutrient Behavior in Hydrothermal Carbonization Aqueous Phase Following Recirculation and Reuse / V. Mau, J. Neumann, B. Wehrli [et al.] // *Environmental Science & Technology*. – 2019. – Vol. 53 (17);
42. Basar I. Incorporating hydrothermal liquefaction into wastewater treatment – Part III: Aqueous phase characterization and evaluation of on-site treatment / I. Basar, H. Liu, C. Eskicioglu // *Chemical Engineering Journal*. – 2023. – Vol. 467 (143422);
43. Berl E. Production of Oil from Plant Material / E. Berl // *American Association for the Advancement of Science*. – 1944. – Vol. 99. – P. 309-312;
44. Schaleger L. Direct liquefaction of biomass: results from operation of continuous bench scale unit from operation of continuous bench scale unit in liquefaction of water slurries of Douglas fir wood / L. Schaleger, C. Figueroa, H. Davis // *Environmental Science Engineering*. – 1982. – Vol. 1. – P. 1-7;

45. Yokoyama S. Liquid fuel production from sewage sludge by catalytic conversion using sodium carbonate / S. Yokoyama, A. Suzuki, M. Murakami [et al.] // *Fuel*. – 1987. – Vol. 66. – P. 1150-1155;

46. Suzuki A. Conversion of sewage sludge to heavy oil by direct thermochemical liquefaction / A. Suzuki, T. NakaMura // *Journal of chemical engineering of Japan*. – 1988. – Vol. 21. – P. 288-293;

47. Basar I.A. A Review on Key Design and Operational Parameters to Optimize and Develop Hydrothermal Liquefaction of Biomass for Biorefinery Applications / I. A. Basar, H. Liu, H. Carrere [et al.] // *Green Chemistry*. – 2021. – Vol. 23 (2). – P. 1404 -1446;

48. Liu H. Hydrochar derived from municipal sludge through hydrothermal processing: A critical review on its formation, characterization, and valorization / H. Liu, I.A. Basar, A. Nzihou, C. Eskicioglu // *Water Research*. – 2021. – Vol. 199 (117186);

49. Kulikova Y. Feasibility of Thermal Utilization of Primary and Secondary Sludge from a Biological Wastewater Treatment Plant in Kaliningrad City / Y. Kulikova, O. Babich, A. Tsybina [et al.] // *Energies*. – 2022. – Vol. 15 (5639);

50. Kulikova Y. Analysis and Comparison of Bio-Oils Obtained by Hydrothermal Liquefaction of Organic Waste / Y. Kulikova, M. Krasnovskikh, N. Sliusar [et al.] // *Sustainability*. – 2023. – Vol. 15 (2). – P. 1-17;

51. Ponnusamy V. Review on sustainable production of biochar through hydrothermal liquefaction: Physico-chemical properties and applications / V. Ponnusamy, S. Nagappan, R. Bhosale [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2020. – Vol. 310 (123414);

52. Муравьева Н.А. Получение угольных сорбционных материалов методом гидротермального ожигения и подбор методов их активации / Н.А. Муравьева, Ю.В. Куликова, О.О. Бабич // *Вестник ВостНИИ*. – 2023. - № 2. – P. 81-91;

53. Кузнецов Б. Н. Глубокая переработка бурых углей с получением жидких топлив и углеродных материалов/ Б.Н. Кузнецов, Т.Г. Шендрик, М.Л. Щипко [и др.]; Отв. ред. Г. И. Грицко; Институт химии и химической

технологии СО РАН, Институт физикоорганической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко НАНУ. – Новосибирск: СО РАН, 2012. – 212 с;

54. Lang L. Bioenergy recovery from wastewater produced by hydrothermal processing biomass: Progress, challenges, and opportunities / L. Lang, W. Zhang, S. Leng [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2020. – Vol. 748 (142383);

55. Sundar P. Insights into valuing the aqueous phase derived from hydrothermal liquefaction / P. Sundar, K. P. Gopinath, J. Arun [et al.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2021. – Vol. 144 (111019);

56. Shen R. Microbial electrolysis treatment of post-hydrothermal liquefaction wastewater with hydrogen generation / R. Shen, Y. Jiang, Z. Ge [et al.] // *Applied Energy*. – 2018. – Vol. 212. – P. 509-515;

57. Li B. Hydrothermal liquefaction of sewage sludge and model compound: Heavy metals distribution and behaviors / B. Li, H. Song, T. Yang [et al.] // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2023. – Vol. 169 (105800);

58. Romero A. Microalgae adaptation as a strategy to recycle the aqueous phase from hydrothermal liquefaction / A. Romero, M. Martin, A. Boyer [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2023. – Vol. 371 (128631);

59. Yang L. Integrated anaerobic digestion and algae cultivation for energy recovery and nutrient supply from post-hydrothermal liquefaction wastewater / L. Yang, B. Si, X. Tan [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2018. – Vol. 266. – P. 349-356;

60. Hefnawy M. Integrated approach for enhanced crude bio-oil yield from microalgae cultivated on the aqueous phase of hydrothermal co-liquefaction with agar-free seaweed residues / M. Hefnawy, S. Alhayyani, A. Ismail [et al.] // *Journal of Cleaner Production*. – 2023. – Vol. 392 (136286);

61. Maddi B. Quantitative characterization of the aqueous fraction from hydrothermal liquefaction of algae / B. Maddi, E. Panisko, T. Wietsma [et al.] // *Biomass and Bioenergy*. – 2016. – Vol. 93. – P. 122-130;

62. Arun J. Enrichment of bio-oil after hydrothermal liquefaction (HTL) of microalgae *C. vulgaris* grown in wastewater: Bio-char and post HTL wastewater

utilization studies / J. Arun, P. Varshini, P. Prithvynath [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2018. – Vol. 261. – P. 182-187;

63. Dandamudi K. Hydrothermal liquefaction of *Cyanidioschyzon merolae* and *Salicornia bigelovii* Torr.: The interaction effect on product distribution and chemistry / K. Dandamudi, K. Luboowa, M. Laideson [et al.] // *Fuel*. – 2020. – Vol. 277 (118146);

64. Dandamudi K. Hydrothermal liquefaction of green microalga *Kirchneriella* sp. under sub- and super-critical water conditions / K. Dandamudi, T. Muppaneni, J. Markovski [et al.] // *Biomass and Bioenergy*. – 2019. – Vol. 120. – P. 224-228;

65. Li R. Improved methane production and energy recovery of post-hydrothermal liquefaction waste water via integration of zeolite adsorption and anaerobic digestion / R. Li, D. Liu, Y. Zhnag [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2019. – Vol. 651 Part 1. – P. 61-69;

66. Kohasal K. Hydrothermal liquefaction of pre-treated municipal solid waste (biopulp) with recirculation of concentrated aqueous phase / K. Kohansal, S. Toor, K. Sharma [et al.] // *Biomass and Bioenergy*. – 2021. – Vol. 148 (106032);

67. Zhang L. Nutrient recovery and biomass production by cultivating *Chlorella vulgaris* 1067 from four types of post-hydrothermal liquefaction wastewater / L. Zhang, H. Lu, Y. Zhang [et al.] // *Journal of Applied Phycology*. – 2016. – Vol. 28. – P. 1031-1039;

68. Gu Y. Biological systems for treatment and valorization of wastewater generated from hydrothermal liquefaction of biomass and systems thinking: A review / Y. Gu, X. Zhang, B. Deal [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2019. – Vol. 278. – P. 329-345;

69. Bauer S. Evaluating the Water Quality Impacts of Hydrothermal Liquefaction Assessment of Carbon, Nitrogen, and Energy Recovery / S. Bauer, C. Reynolds, S. Peng [et al.] // *Bioresource Technology Reports*. – 2018. – Vol. 2. – P. 115-120;

70. Leng L. Valorization of the aqueous phase produced from wet and dry thermochemical processing biomass: A review / L. Leng, L. Yang, J. Chen [et al.] // *Journal of Cleaner Production*. – 2021. – Vol. 294 (126238);

71. Ekpo U. Influence of pH on hydrothermal treatment of swine manure: Impact on extraction of nitrogen and phosphorus in process water / U. Ekpo, A. Ross, M. Camargo-Valero [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2016. – Vol. 214. – P. 637-644;
72. Lu J. Simultaneous production of biocrude oil and recovery of nutrients and metals from human feces via hydrothermal liquefaction / J. Lu, J. Zhang, Z. Zhu [et al.] // *Energy Conversion and Management*. – 2017. – Vol. 134. – P. 340-346;
73. Lu J. Elemental migration and transformation during hydrothermal liquefaction of biomass / J. Lu, J. Watson, Z. Liu [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2022. – Vol. 423 Part A (126961);
74. Rout P. Technological advancements in valorisation of industrial effluents employing hydrothermal liquefaction of biomass: Strategic innovations, barriers and perspectives / P. Rout, M. Goel, D. Pandey [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2023. – Vol. 316 (120667);
75. Adedeji O. Anaerobic digestion of aqueous product of co-hydrothermal liquefaction of beverage waste and sewage sludge: Reduction of toxicity and energy assessment/ O. Adedeji, J. Bauer, K. Jahan // *Energy Conversion and Management*. – 2023. – Vol. 290 (117228);
76. Kumar V. Hydrothermal liquefaction of municipal wastewater sludge and nutrient recovery from the aqueous phase / V. Kumar, K. Jaiswal, M. Vlaskin [et al.] // *Biofuels*. – 2021. – P. 657-662;
77. Matayeva A Hydrothermal liquefaction aqueous phase treatment and hydrogen production using electro-oxidation / A. Matayeva, P. Biller // *Energy Conversion and Management*. – 2021. – Vol. 244 (114462);
78. Xu D. Comprehensive evaluation on product characteristics of fast hydrothermal liquefaction of sewage sludge at different temperatures / D. Xu, G. Lin, L. Liu [et al.] // *Energy*. – 2018. – Vol. 159. – P. 686-695;
79. Wang Z. Hydrothermal liquefaction of sewage sludge: A comprehensive review of biocrude oil production, byproducts valorization, and future perspectives / Z. Wang, X. Li, H. Liu [et al.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2025. – Vol 224. (116086);

80. Harisankar S. Effect of water quality on the yield and quality of the products from hydrothermal liquefaction and carbonization of rice straw / S. Harisankar, R. Mohan, V. Choudhary [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2022. Vol. 351. – 12703;
81. Chen H. Methane potentials of wastewater generated from hydrothermal liquefaction of rice straw: focusing on the wastewater characteristics and microbial community compositions / H. Chen, C. Zhang, Y. Rao [et al.] // *Biotechnology for Biofuels and Bioproduct*. – 2017. – № 140 (10);
82. Erdogan E. Characterization of products from hydrothermal carbonization of orange pomace including anaerobic digestibility of process liquor / E. Erdogan, B. Atila, J. Mumme [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2015. – Vol. 196. – P. 34-42;
83. Conti F. Biocrude production and nutrients recovery through hydrothermal liquefaction of wastewater irrigated willow / F. Conti, S. Toor, T. Pedersen [et al.] // *Biomass and Bioenergy*. – 2018. – Vol. 118. – P. 24-31;
84. Si B. Inhibitors degradation and microbial response during continuous anaerobic conversion of hydrothermal liquefaction wastewater / B. Si, J. Li, Z. Zhu [et al.] // *Science of the total Environment*. – 2018. – Vol. 630. – P. 1124-1132;
85. Seehar T. Biocrude Production from Wheat Straw at Sub and Supercritical Hydrothermal Liquefaction / T. Seehar, S. Toor, A. Shah [et al.] // *Energies*. – 2020. – Vol 13. – № 12 (3114);
86. He S. Synergetic effect and primary reaction network of corn cob and cattle manure in single and mixed hydrothermal liquefaction / S. He, J. Wang, Z. Cheng [et al.] // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2021. – Vol. 155 (105076);
87. Mishra S. Co-HTL of domestic sewage sludge and wastewater treatment derived microalgal biomass – An integrated biorefinery approach for sustainable biocrude production / S. Mishra, K. Mohanty // *Energy Conversion and Management*. – 2020. – Vol. 204 (112312);
88. Kumar V. Low-temperature catalyst based Hydrothermal liquefaction of harmful Macroalgal blooms, and aqueous phase nutrient recycling by microalgae / V. Kumar, S. Kumar, P. K. Chauhan [et al.] // *Nature*. – 2019. – Vol. 9 (11384);

89. Leng L. Use of microalgae to recycle nutrients in aqueous phase derived from hydrothermal liquefaction process / L. Leng, J. Li, Z. Wen, W. Zhou // *Bioresource Technology*. – 2018. – Vol. (256). – P. 529-542;
90. Shahbeik H. Biomass to biofuels using hydrothermal liquefaction: A comprehensive review / H. Shahbeik, H. Panahi, M. Dehghani [et al.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2024. – Vol 189. (113976);
91. Fan Y. Hydrothermal liquefaction of sewage sludge for biofuel application: A review on fundamentals, current challenges and strategies / Y. Fan, U. Hornung, N. Dahmen // *Biomass and Bioenergy*. – 2022. – Vol. 165 (106570);
92. Adedeji O. Co-Hydrothermal Liquefaction of Sewage Sludge and Beverage Waste for High-Quality Bio-energy Production / O. Adedeji, J. Russack, L. Molnar, S. Bauer // *Fuel*. – 2022. – Vol. 324 (124757);
93. Hao B. Chemical reactions in the hydrothermal liquefaction of biomass and in the catalytic hydrogenation upgrading of biocrude / B. Hao, D. Xu, G. Jiang [et al.] // *Green Chemistry*. – 2021. – Vol. 23. – P. 1562-1583;
94. Chen Y. Hydrothermal reaction of phenylalanine as a model compound of algal protein / Y. Chen, Y. Huang, J. Xie [et al.] // *Journal of Fuel Chemistry and Technology*. – 2014. – Vol. 14. – P. 61-67;
95. Watanabe M. Oil formation from glucose with formic acid and cobalt catalyst in hot-compressed water / M. Watanabe, F. Bayer, A. Kruse [et al.] // *Carbohydrate Research*. – 2006. – Vol. 341. – P. 2891-2900;
96. Xu Y. Hydrothermal liquefaction of lignocellulose for value-added products: Mechanism, parameter and production application / Y. Xu, M. Li // *Bioresource Technology*. – 2021. – Vol. 342 (126035);
97. Feng L. Catalytic hydrothermal liquefaction of lignin for production of aromatic hydrocarbon over metal supported mesoporous catalyst / L. Feng, X. Li, Z. Wang, B. Liu // *Bioresource Technology*. – 2021. – Vol. 323 (124569);
98. Wei Y. Hydrothermal liquefaction of municipal sludge and its products applications / Y. Wei, D. Xu, M. Xu [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2024. – Vol. 908 (168177);

99. He S. Hydrothermal liquefaction of low-lipid algae *Nannochloropsis* sp. and *Sargassum* sp.: Effect of feedstock composition and temperature / S. He, M. Zhao, J. Wang [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2020. – Vol. 712 (135677);
100. Si B. Anaerobic conversion of the hydrothermal liquefaction aqueous phase: fate of organics and intensification with granule activated carbon/ozone pretreatment / B. Si, L. Yang, X. Zhou [et al.] // *Green Chemistry*. – 2019. – Vol. 21. – P. 1305-1318;
101. Chen H. Hydrothermal conversion of sewage sludge: Focusing on the characterization of liquid products and their methane yields / H. Chen, Y. Rao, L. Cao [et al.] // *Chemical Engineering Journal*. – 2019. – Vol. 357. – P. 367-375;
102. Jokinen N. Valorization potential of the aqueous products from hydrothermal liquefaction and stepwise slow pyrolysis of wood bark and hemp hurds with yields and product comparison / N. Jokinen, E. Eronen, A. Salami [et al.] // *Bioresource Technology Reports*. – 2023. – Vol. 21 (101385);
103. Elliott D. Conversion of a wet waste feedstock to biocrude by hydrothermal processing in a continuous-flow reactor: grape pomace / D. Elliott, A. Schmidt, T. Hart, J. Billing // *Biomass Conversion and Biorefinery*. – 2017. – Vol. 7. – P. 455-465;
104. Mahima J. Effect of algae (*Scenedesmus obliquus*) biomass pre-treatment on bio-oil production in hydrothermal liquefaction (HTL): Biochar and aqueous phase utilization studies / J. Mahima, R. Sundaresh, K. Gopinath [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2021. – Vol. 778 (146262);
105. Yu J. Bio-crude oil production and valorization of hydrochar as anode material from hydrothermal liquefaction of algae grown on brackish dairy wastewater / J. Yu, M. Audu, M. Myint [et al.] // *Fuel Processing Technology*. – 2022. – Vol. 227 (107119);
106. Aken P. The effect of ozonation on the toxicity and biodegradability of 2,4-dichlorophenol-containing wastewater / P. Aken, R. Broeck, J. Degreve [et al.] // *Chemical Engineering Journal*. – 2015. – Vol. 280. – P. 728-736;

107. Jayakody L. Thermochemical wastewater valorization via enhanced microbial toxicity tolerance / L. Jayakody, C. Johnson, J. Whitham [et al.] // *Energy & Environmental Science*. – 2018. – Vol. 11 (6). – P. 1625-1638;

108. Reza M. Wet Air Oxidation of Hydrothermal Carbonization (HTC) Process Liquid / M. Reza, A. Freitas, X. Yang [et al.] // *ACS Sustainable Chemistry*. – 2016. – Vol. 4. – № 6. – P. 3250-3254;

109. Thomsen L. Wet oxidation of aqueous phase from hydrothermal liquefaction of sewage sludge/ L. Thomsem, K. Anastasakis, P. Biller// *Water Research*. – 2022. – Vol. 209 (117863);

110. Zhou Y. Anaerobic digestion of post-hydrothermal liquefaction wastewater for improved energy efficiency of hydrothermal bioenergy processes / Y. Zhou, L. Schideman, M. Zheng [et al.] // *Water Science & Technology*. – 2015. – Vol. 72 (12). – P. 2139-2147;

111. Sapillado G. Preparation and testing of low-cost bioadsorbents for improving the anaerobic digestion of post-hydrothermal liquefaction wastewater (PHWW) / G. Sapillado, M. Melo, P. Sobral [et al.] // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. – 2022. – Vol. 10 (108222);

112. McGinn P. Strategies for recovery and recycling of nutrients from municipal sewage treatment effluent and hydrothermal liquefaction wastewaters for the growth of the microalga *Scenedesmus* sp. AMDD / P. McGinn, K. Park, G. Robertson. // *Algal Research*. – 2019. – Vol. 38 (101418);

113. Das P. A feasibility study of utilizing hydrothermal liquefaction derived aqueous phase as nutrients for semi-continuous cultivation of *Tetraselmis* sp./ P. Das, M. AbdulQuadir, M. Thaher [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2020. – Vol. 295 (122310);

114. Cordova L. Valorizing a hydrothermal liquefaction aqueous phase through coproduction of chemicals and lipids using the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* / L. Cordova, B. Lad, S. Ali [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2020. – Vol. 313 (123639);

115. Shende A. Evaluation of Aqueous Product from Hydrothermal Liquefaction of Cardboard as Bacterial Growth Medium: Co-Liquefaction of Cardboard and Bacteria for Higher Bio-Oil Production / A. Shende, W. Nan, E. Kodzomoy [et al.] // Journal of Sustainable Bioenergy System. –2017. – Vol. 7. – P. 51-64;
116. He Y. Biological conversion of the aqueous wastes from hydrothermal liquefaction of algae and pine wood by *Rhodococci* / Y. He, X. Li, X. Xue [et al.] // Bioresource Technology. – 2017. – Vol. 224. – P. 457-464;
117. Coleman S. Evolving tolerance of *Yarrowia lipolytica* to hydrothermal liquefaction / S. Coleman, L. Cordova, B. Lad [et al.] // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2023. – Vol. 107. – P. 2011-2025;
118. Seyedi S. Current status of biomethane production using aqueous liquid from pyrolysis and hydrothermal liquefaction of sewage sludge and similar biomass / S. Seyedi, K. Venkiteshwaran, D. Zitomer // Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. – 2021. – Vol. 20. – P. 237-255;
119. Bueno B. Continuous Anaerobic Treatment of the Aqueous Phase of Hydrothermal Liquefaction from *Spirulina* Using a Horizontal-Flow Anaerobic Immobilized Biomass (HAIB) Reactor / B. Bueno, D. Quispe-Arpasi, L. Soares [et al.] // Water Air Soil Pollution. – 2021. – Vol. 232 (97);
120. Quispe-Arpasi D. Anaerobic and photocatalytic treatments of post-hydrothermal liquefaction wastewater using H₂O₂/ D. Quispe-Arpasi, R. Souza, M. Stablein [et al.] // Bioresource Technology. – 2018. – Vol. 3. – P. 247–255;
121. Wang P. Effect of ammonia removal and biochar detoxification on anaerobic digestion of aqueous phase from municipal sludge hydrothermal liquefaction / P. Wang, Y. Sakhno, S. Adhikari [et al.] //Bioresource Technology. – 2021. – Vol. 326 (124730);
122. Li R.Enhanced anaerobic digestion of post-hydrothermal liquefaction wastewater: Bio-methane production, carbon distribution and microbial metabolism / R. Li, D. Liu, Y. Zhang [et al.] //Science of the Total Environment. – 2022. – Vol. 837 (155659);

123. Dias M.E. Anaerobic digestion of hydrothermal liquefaction wastewater from spent coffee grounds / M.E. Dias, G.H.D. Oliveira, P.T. Couto // *Biomass and Bioenergy*. – 2021. – Vol. 148 (106030);

124. Chen H. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of aqueous phase generated from hydrothermal liquefaction of cornstalk: Molecular and metabolic insights / H. Chen, S. Hao, Z. Chen [et al.] // *Water Research*. – 2020. – Vol. 168 (115199);

125. Fernandez S. Anaerobic digestion of organic fraction from hydrothermal liquefied algae wastewater by product / S. Fernandez S, K. Srinivas, AJ. Schmidt // *Bioresource Technology*. – 2018. – Vol. 247. – P. 250–258;

126. Shanmugam S. Effect of biochar on methane generation from glucose and aqueous phase of algae liquefaction using mixed anaerobic cultures / S. Shanmugam, S. Adhikari, H. Nam, S. Sajib // *Biomass Bioenergy*. – 2018. – Vol. 108. – P. 479–486;

127. Shen R. Microbial electrolysis treatment of post-hydrothermal liquefaction wastewater with hydrogen generation / R. Shen, Y. Jiahg, Z. Ge [et al.] // *Applied Energy*. – 2018. – Vol. 212. – P. 509-515;

128. Wilberforce T. Value added products from wastewater using bioelectrochemical systems: Current trends and perspectives / T. Wilberforce, E. Sayed, M. Abdelkareem [et al.] // *Journal of Water Process Engineering*. – 2021. – Vol. 39 (101737);

129. Yang E. A review on self-sustainable microbial electrolysis cells for electro-biohydrogen production via coupling with carbon-neutral renewable energy technologies / E. Yang, H. Mohamed, S. Park [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2021. – Vol. 320 (124363);

130. Liu Z. Performance and microbial community of carbon nanotube fixed-bed microbial fuel cell continuously fed with hydrothermal liquefied cornstalk biomass / Z. Liu, Y. He, R. Shen [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2015. – Vol. 185. – P. 294-301;

131. Wang H. A comprehensive review of microbial electrochemical systems as a platform technology / H. Wang, Z. Ren // *Biotechnology Advances*. – 2013. – Vol. 31. – Issue 8. – P. 1796-1807;

132. Mathuriya A. Microbial fuel cells – Applications for generation of electrical power and beyond / A. Mathuriya, J.V. Yakhim // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2016. – Vol. 42. – Issue 1. – P. 127-143;

133. Zhen G. Microbial electrolysis cell platform for simultaneous waste biorefinery and clean electrofuels generation: Current situation, challenges and future perspectives / G. Zhen, X. Lu, G. Kumar [et al.] // *Progress in Energy and Combustion Science*. – 2017. – Vol. 63. – P. 119-145;

134. Langone M. Evaluation of the aerobic biodegradability of process water produced by hydrothermal carbonization and inhibition effects on the heterotrophic biomass of an activated sludge system / M. Langone, G. Sabia, L. Petta [et al.] // *Journal of Environmental Management*. – 2021. – Vol. 299 (113561);

135. Torri C. Biological treatment of Hydrothermal Liquefaction (HTL) wastewater: Analytical evaluation of continuous process streams / C. Torri, A. Kiwan, M. Cavallo [et al.] // *Journal of Water Process Engineering*. – 2021. – Vol. 40 (101798);

136. Blach T. Effect of temperature during the hydrothermal carbonization of sewage sludge on the aerobic treatment of the produced process waters / T. Blach, P. Lechevallier, M. Engelhart // *Journal of Water Process Engineering*. – 2023. – Vol. 51 (103368);

137. Macedo W. Is nitrification inhibition the bottleneck of integrating hydrothermal liquefaction in wastewater treatment plants? / W. Macedo, J. Schmidt, S. Jensen [et al.] // *Journal of Environmental Management*. – 2023. – Vol. 348 (119046);

138. Sverdrup L. Soil microbial toxicity of eight polycyclic aromatic compounds: Effects on nitrification, the genetic diversity of bacteria, and the total number of protozoans / L. Sverdrup, F. Ekelund, P. Krogh [et al.] // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2009. – Vol. 21. – P. 1644-1650;

139. Zhang H. Biochemical properties of sludge derived hydrothermal liquid products and microbial response of wastewater treatment / H. Zhang, G. Li, W. Li [et al.] // *Process Biochemistry*. – 2024. – Vol. 144. – P. 294-305;

140. Zhang K. Spatial distribution of bacterial community in EGSB reactor treating synthetic sulfate-containing wastewater at low organic loading rate / K. Zhang, X. Cao, Y. Sheng, H. Cao // *Chinese Science Bulletin*. – 2013. – Vol. 59. – P. 54-61;

141. Hamze A. Comprehensive hydrothermal pretreatment of municipal sewage sludge: A systematic approach / A. Hamze, B. Zakaira, M. Zagghloul [et al.] // *Journal of Environmental Management*. – 2024. – Vol. 361 (121194);

142. Aktas K. Treatment of aqueous phase from hydrothermal liquefaction of municipal sludge by adsorption: Comparison of biochar, hydrochar, and granular activated carbon / K. Aktas, H. Liu, C. Eskicioglu // *Journal of Environmental Management*. – 2024. – Vol. 356 (120619);

143. Yang L. Nutrients removal and lipids production by *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch wastewater and alcohol wastewater / L. Yang, X. Tan, D. Li [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2015. – Vol. 181. – P. 54-61;

144. ГОСТ Р 57166-2016. Определение токсичности по выживаемости пресноводных инфузорий *Paramecium caudatum*. – Введ. 01.01.2018. – М.: Стандартинформ, 2016. – 28 с;

145. Галицкая П.Ю. Тестирование отходов, почв, материалов с использованием живых систем: учеб.-метод. пособие / П.Ю. Галицкая, С.Ю. Селивановская, Р.Х. Гумерова. – Казань: Казан. ун-т, 2014. – 57 с;

146. ФР 1.39.2006.02505 Методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных рачков *Artemia salina*. Введ. 2009.01.01 М.: МГУ, 2009. – 28 с;

147. ПНД Ф 14.1:2:3:4.123-97. Методика выполнения измерений биохимической потребности в кислороде после n-дней инкубации в

поверхностных, пресных, подземных (грунтовых), питьевых, сточных и очищенных сточных водах / ГУАК Госкомэкологии России. – М., 1997. – 27с;

148. ПНД Ф 14.1:2.3.1-95. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации NH_4^+ в природных и сточных водах фотометрическим методом с реактивом Несслера: утв. ФБУ Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия. – М., 26.05.2017. – 22 с;

149. ПНД Ф 14.1:2.3-95. Количественный химический анализ вод: методика выполнения измерений массовой концентрации нитрит-ионов в природных и сточных водах фотометрическим методом с реактивом Грисса / ГУАК Минприроды РФ. – М., 1995. – 10с;

150. ПНД Ф 14.1:2.4-95. Количественный химический анализ вод: методика выполнения измерений массовой концентрации нитрат-ионов в природных и сточных водах фотометрическим методом с салициловой кислотой / ГУАК Минприроды РФ. – М., 1995. – 10с;

151. ПНД Ф 14.1:2.112-97. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации фосфат - ионов пробах природных и очищенных сточных вод фотометрическим методом восстановлением аскорбиновой кислотой: утв. ФБУ Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия. – М., 23.03.2011. – 15 с;

152. ПНД Ф 14.1:2.100-97. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений химического потребления кислорода в пробах природных и очищенных сточных вод титриметрическим методом: утв. Государственный комитет РФ по охране окружающей среды – М. 01.09.2016. – 16 с;

153. Zhao J. NMR technique and methodology in botanical health product analysis and quality control / J. Zhao, M. Wang, S.G. Saroja [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2021. – Vol. 207 (114376);

154. Saito T. Practical guide for accurate quantitative solution state NMR analysis / T. Saito, S. Nakaie, M. Kinoshita [et al] // Metrologia. – 2004. – Vol. 41 (213);

155. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии /А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с;
156. Чемодурова А.А. *Ancylobacter lacus* sp. nov. и *Ancylobacter plantiphilus* sp. nov. – новые аэробные факультативно-метилотрофные бактерии / А.А. Чемодурова, Е.Н. Капаруллина, А.В. Мачулин [и др.] // Микробиология. – 2020. – Т 89(1). – С. 42–51;
157. Weisburg W.G. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study / W.G. Weisburg, S.M. Barns, D.A. Pelletier [et al.] // Journal Bacteriology. – 1991. – Vol. 173. – P. 697-703;
158. Шайхиев И.Г. Исследование сорбции ионов железа (III) из модельных растворов с использованием модифицированного кислотами жома сахарной свеклы / И.Г. Шайхиев, А.А. Овчинникова // Вестник Технологического Университета. – 2017. – Т 20. - № 4. – С. 143-148;
159. Ханхасаева С.Ц. Адсорбция триарилметанового красителя на Самонтмориллоните: равновесие, кинетика и термодинамика / С.Ц. Ханхасаева, Э.Ц. Дашинамжилова, С.В. Бадмаева [и др.] // Коллоидный журнал. – 2018. – Т. 80. - № 4. – С. 472-478;
160. Галимова Р.З. Изучение термодинамики сорбции фенола на осиновых опилках / Р.З. Галимова, И.Г. Шайхиев, Г.А. Алмазова // Вестник технологического университета. – 2016. – Т. 19. – № 1. – С. 60-63;
161. Зорина А.С. Биопленкообразование моно- и смешанных культур штаммов *Alcaligenes faecalis* 2 и *Rhodococcus ruber* gt 1 / А.С. Зорина, Ю.Г. Максимова, В.А. Демаков // Микробиология. – 2019. – Т. 88. – № 2. – С. 175-183;
162. Оценка активности внеклеточных лектинов бактерий в формировании агрегированных микробных форм / А.В. Кобелев, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина [и др.] // Бутелровские сообщения. – 2021. – Т. 65. – № 1. – С. 105-113;
163. Синетова М.А. Характеристика биотехнологического потенциала штаммов цианобактерий и микроводорослей коллекции IPPAS / М.А.

Синетова, Р.А. Сидоров, А.Ю. Стариков [и др.] // Биотехнология. – 2019. – Т. 35. - № 3. – С. 12-19;

164. Rodriguez S. Comparison of protein precipitation methods for sample preparation prior to proteomic analysis of Chinese hamster ovary cell homogenates / S. Rodriguez, O. Ramirez, M. Roldan [et al.] // Electronic Journal of Biotechnology. – 2020. – Vol. 48. – P. 86-94;

165. Leyva A. Rapid and sensitive anthrone-sulfuric acid assay in microplate format to quantify carbohydrate in biopharmaceutical products: Method development and validation / A. Leyva, A. Quintana, M. Sanchez [et al.] // Biological. – 2008. – Vol. 36 (2). – P. 134-141;

166. Chen L. Recycling nutrients from a sequential hydrothermal liquefaction process for microalgae culture / L. Chen, T. Zhu, J. Fernandez [et al.] // Algal Research. – 2017. – Vol. 27. – P. 311-317;

167. Инструкция по лабораторному контролю очистных сооружений на животноводческих комплексах. Часть III. Определение биогенных веществ. Анализ осадков и ила. – М., 1984. – 34 с;

168. ФР 1.31.2008.04397, ФР 1.31.2008.04398, ФР 1.31.2008.04399, ФР 1.31.2008.04400. Комплект методик по гидрохимическому контролю активного ила: определение массовой концентрации активного ила, илового индекса, зольности сырого осадка активного ила, прозрачности надильной воды. – Введ. 2007.12.11. – М.: Акварос, 2008. – 31 с.

169. Жмур Н.С. Методические руководства по гидробиологическому и бактериологическому контролю процесса биологической очистки на сооружениях с аэротенками. ПНД Ф СБ 14.1.77-96 / Н.С. Жмур. – М.: ИПК издательство стандартов, 1996. – 37 с.

170. Балымова Е.С. Экспресс-метод контроля для управления процессом биологической очистки сточных вод нефтехимического комплекса: на примере ОАО «Казаньоргсинтез»: дисс. ... канд. техн. наук: 03.02.08 // Балымова Елена Сергеевна; науч. рук. Р.К. Закиров; ФГБОУ ВПО КНИТУ. – Казань 2015. – 151 с;

171. Shannon C.E. The mathematical theory of communication / C.E. Shannon // Bell System Technical Journal. – 1948. – Vol. 27. – P. 379-423;
172. Cuba T.R. Diversity: two-level approach / T.R. Cuba // Ecology. – 1981. - № 62. – P. 278-279;
173. Палий В.Ф. О количественных показателях при обработке фаунистических материалов / В.Ф. Палий // Зоологический журнал. – 1961. – Т. 60. – № 1. – С. 3-12;
174. Kownacki A. Taxocens of *Chironomidae* in streams of Polish Hight Tatra / A. Kownacki // Acta Hydrobiology. – 1971. – Vol. 13. – № 2. – P. 439-463;
175. Manura P. Towards sewage sludge-based biofuels via thermochemical conversion – A review / P. Manura, A. Zabaniotou // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2012. – Vol. 16. – P. 2566-2582;
176. Kulikova Y. Aqueous Phase from Hydrothermal Liquefaction: Composition and Toxicity Assessment / Y. Kulikova, S. Klementev, A. Sirotkin [et al.] // Water. – 2023. – Vol. 15. – P. 1-14;
177. Клементьев С.В. Оценка интегральной токсичности водной фазы, полученной при гидротермальной конверсии органических осадков очистных сооружений / С.В. Клементьев, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин // Сборник статей XIII Международной конференции ученых-биологов. – 2023. – С. 87-91;
178. Халилова А.А. Сравнительная оценка токсичности сточных вод, содержащих ионы хрома и никеля с применением различных тест-объектов / Халилова А.А., Яковлев А.В., Сироткин А.С. // Вестник Казанского Технологического Университета. – 2010. – № 10. – С.392-400.
179. Kizza R. Ultrafiltration fractionation of potentially inhibitory substances of hydrothermal liquefaction aqueous phase derived from municipal sludge / R. Kizza, C. Eskicioglu // Water Research. – 2024. – Vol. 257 (121703);
180. Кувичкина Т.Н. Окисление фенола иммобилизованными клетками *Pseudomonas monteili zima* / Т.Н. Кувичкина, В.Е. Носулич, Е.Н. Капаруллина [и др.] // Известия ТулГУ. – 2020. - № 2. – С. 44-55;

181. Рыбкина Д.О. Почвенные микроорганизмы разлагающие ароматические углеводороды и карбоновые кислоты / Д.О. Рыбкина, В.А. Гусев, Е.Г. Плотникова // Вестник Пермского Университета. – 2005. – № 6. – С. 115-122;

182. Клементьев С.В. Эффективность биодеструкции компонентов водной фазы гидротермального ожигения биомассы избыточного активного ила / С.В. Клементьев, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин // Материалы XVIII Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые Технологии и Биотехнологии». – 2023. – С. 401-405;

183. Klementev S.V. Biodegradation of Components of the Aqueous Phase of the Process of Hydrothermal Liquefaction of Activated Sludge Biomass / S.V. Klementev, V.V. Lisun, Yu. V. Kulikova, A.S. Sirotkin // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2025. – Vol. 61. - № 7. – P. 189-197;

184. Клементьев С.В. Оценка эффективности микробной деструкции компонентов водной фазы, полученной при гидротермальном ожигении биомассы активного ила / С.В. Клементьев, Ю.В. Куликов, А.С. Сироткин // Сборник тезисов докладов Всероссийского форума молодых исследователей «ХимБиоSeason». – 2023. – С. 32;

185. Клементьев С.В. Оценка эффективности микробной деструкции компонентов водной фазы процесса гидротермального ожигения избыточной биомассы активного ила / С.В. Клементьев // Сборник тезисов докладов VIII Всероссийского молодежного научного форума «Наука будущего – наука молодых». – 2023. – С. 135;

186. Клементьев С.В. Характеристика микробных изолятов в процессе обезвреживания водной фазы гидротермального ожигения биомассы активного ила / С.В. Клементьев, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин // Сборник тезисов XIV молодежной школы конференции с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии». – 2024. – С. 108-110;

187. Rosas-Diaz J. *Paenarthrobacter* sp. GOM3 Is a Novel Marine Species with Monoaromatic Degradation Relevance / J. Rosas-Diaz, A. Zepeda, L. Adaya [et al.] // Frontiers Microbiology. – 2021. – Vol. 12 (713702);

188. Wang Y. Chemotaxis Towards Aromatic Compounds: Insights from *Comamonas testosterone* / Y. Wang, Z. Huang, S. Liu // Journal of Molecular Science. – 2019. – Vol. 20 (11). – P. 1-13;

189. Wilkes R. Complex regulation in a *Comamonas* platform for diverse aromatic carbon metabolism / R. Wilkes, J. Waldbauer, A. Carrol [et al.] // Nature Chemical Biology. – 2023. – Vol. 19. – P. 651-662;

190. Хасанова А.А. Изучение способности бактерий активного ила к образованию биопленок / А.А. Хасанова, А.С. Сироткин, Е.В. Перушкина // Известие вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2024. – Т. 14. – № 2. – С. 207-214;

191. Paulino R. Critical review of adsorption and biodegradation mechanisms for removal of biogenic taste and odour compounds in granular and biological activated carbon contactors / R. Paulino, B. Tamburic, R. M. Stuetz [et al.] // Journal of Water Process Engineering. – 2023. – Vol. 52 (103518);

192. Mkilima T. Biofilm-Enhanced Natural Zeolite Material in Purification Performance for Slaughterhouse Wastewater / T. Mkilima, K. Meiramkulova, A. Kudyrbekova [et al.] // Water. – 2023. – Vol. 15 (3501);

193. Клементьев С.В. Обезвреживание компонентов водной фазы гидротермального оживления избыточного активного ила в биосорбционных системах / С.В. Клементьев, А.С. Сироткин, А.А. Хасанова, Ю.В. Куликова // Бутлеровские сообщения. – 2024. – Т. 77, в. 3. – С. 113-121;

194. Клементьев С.В. Экспериментальная оценка образования биопленок на водной фазе процесса гидротермального оживления / С.В. Клементьев, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин // Сборник тезисов XXXVI международной зимней молодёжной научной школы «перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии». – 2024. – С. 112;

195. Клементьев С.В. Способность бактерий к образованию биопленок на водной фазе процесса гидротермального оживления биомассы активного ила / С.В. Клементьев, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин/ Материалы X международной

конференции молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, вирусологов и молекулярных биологов «OPENBIO». – 2023. – С. 158-159;

196. Иркитова А.Н. Оптимизация метода определения антагонистической активности пробиотических бактерий / А.Н. Иркитова, Е.С. Яценко // Технология пищевой и перерабатывающей промышленности. – 2017. – № 5. – С. 113-117;

197. Zheng M. Anaerobic digestion of wastewater generated from the hydrothermal liquefaction of Spirulina: Toxicity assessment and minimization / M. Zheng, L. Schideman, G. Tommaso [et al.] // Energy Conversion and Management. – 2017. – Vol. 141. – P. 420-428;

198. Клементьев С.В. Адсорбция компонентов водной фазы процесса гидротермального ожигения биомассы активного ила с использованием минерального и углеродного сорбента / С.В. Клементьев, А.С. Сироткин // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т. 76, в. 11. – С. 117-124;

199. Кац Э.М. Особенности катионного обмена NH_4^+ и кальция на модифицированном полиэтиленимином клиноптилолите из поверхностной воды / Э.М. Кац, Н.К. Галкина, И.Б. Серова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2012. – Т. 12. – № 3. – С. 363-369;

200. Барковский И.Е. Модифицированные щелочью активированные угли для сорбции и каталитического окисления сероводорода в процессе очистки воздуха: влияние термической обработки на свойства материалов / И.Е. Барковский, А.И. Лысиков, Ж.В. Весельковская [и др.] // Катализ в промышленности. – 2019. – Т. 19. – № 3. – С. 219-226;

201. Еремин В.В. Основы физической химии: учебное пособие в 2-х частях / В.В. Еремин, И.А. Успенская, С.И. Каргов, Н.Е. Кузьменко, В.В. Лунин. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. – 320 с.;

202. Клементьев С.В. Биообезвреживание водной фазы процесса гидротермального ожигения биомассы активного ила с использованием минерального адсорбента / С.В. Клементьев, А.С. Сироткин // Инновационные биотехнологии для охраны окружающей среды: от теории к практике: материалы I Междунар. науч.-практ. конф. – 2024. – С. 188-189;

203. Lu Z. Effect of granular activated carbon pore-size distribution on biological activated carbon filter performance / Z.Lu, W. Sun, C. Li [et al.] // *Water Research*. – 2020. – Vol. 177 (115768);

204. Дао М.У. Получение и применение сорбента на основе растительных отходов в биологической очистки сточных вод активным илом / М.У. Дао, А.С. Сироткин, С.В. Клементьев [и др.] // *Вестник НЦ ВостНИИ*. – 2022. – № 2. – С.105-118;

205. Yuan C. Integrated route of fast hydrothermal liquefaction of microalgae and sludge by recycling the waste aqueous phase for microalgal growth / C. Yuan, S. Zhao, J. Ni [et al.] // *Fuel*. – 2023. – Vol. 334 (126488);

206. Belete Y. Characterization and utilization of hydrothermal carbonization aqueous phase as nutrient source for microalgal growth / Y. Belete, S. Leu, S. Boussiba // *Bioresource Technology*. – 2019. – Vol. 290 (121758);

207. Orfield N. Life Cycle Design of an Algal Biorefinery Featuring Hydrothermal Liquefaction: Effect of Reaction Conditions and an Alternative Pathway Including Microbial Regrowth / N. Orfield, A. Fang, P. Valdez [et al.] // *ACS Sustainable Chemical Engineering*. – 2014. – Vol. 4. – P. 867-874;

208. Клементьев С.В. Культивирование микроводорослей на водной фазе гидротермального ожижения биомассы активного ила / С.В. Клементьев, Е.А. Буденкова, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин // *Материалы VII Всероссийской научной конференции с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии и экологии, использование в мониторинге и биотехнологии»*. – 2024. – С. 53;

209. Parsy A. Nutrient recovery in effluents from the energy sectors for microalgae and cyanobacteria biomass production: A review / A. Parsy, F. Monlau, R. Guyoneaud., Sambusiti C. // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2024. – Vol. 191 (114207);

210. Hasan M.R. Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture: a review / M. R. Hasan, R. Chakrabati // *Agricultural and Food Sciences, Environmental Science*. – 2009. – P. 136;

211. Ratha S. Hydrothermal liquefaction of algal feedstocks: The effect of biomass characteristics and extraction solvents / S. Ratha, N. Renuka, T. Abunama, // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2022. – Vol. 156 (111973);

212. Haider M. Two-stage catalytic hydrotreatment of highly nitrogenous biocrude from continuous hydrothermal liquefaction: A rational design of the stabilization stage / M. Haider, D. Castello, L. Rosendahl // *Biomass and Bioenergy*. – 2020. – Vol. 139 (105658);

213. Клементьев С.В. Использование водной фазы процесса гидротермального ожижения как субстрата для культивирования микроводорослей / С.В. Клементьев, Е.А. Буденкова, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. – 2024. – Т. 14. – № 4. – С. 537-547;

214. Клементьев С.В. Биоутилизация водной фазы гидротермального ожижения избыточной биомассы активного ила / С.В. Клементьев, А.Р. Хабибуллина, А.С. Сироткин, Ю.В. Куликова // XIX Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии». – 2025. – С. 610-616;

215. Papadopoulou E.S. Comparison of novel and established nitrification inhibitors relevant to agriculture on soil ammonia- and nitrite-oxidizing isolates / E.S. Papadopoulou, E. Bachtsevani, E. Lampronikou [et al.] // *Front. Microbiology*. – 2020. – Vol. 11 (581283);

216. Prosser J.I. Autotrophic nitrification in bacteria / J.I. Prosser // *Advances in Microbial Physiology* / ed. by A.H. Rose, D.W. Tempest. – London: Academic Press, 1989. – Vol. 30. – P. 125-181;

217. Балымова Е.С. Показатели оценки состояния активного ила в процессе водоочистки: сравнительный анализ / Е.С. Балымова, Ю.М. Сафиуллина, Ф.Ю. Ахмадуллина [и др.] // *Бутлеровские сообщения*. – 2020. – Т. 61. – В. 1. – 96- 103;

218. Клементьев С.В. Биообезвреживание водной фазы процесса гидротермального ожижения избыточной биомассы активного ила в процессе его отъемно-доливного культивирования / С.В. Клементьев, А.Р.

Хабибуллина, А.С. Сироткин, Ю.В. Куликова // *Химическая промышленность сегодня*. – 2025. – № 5. – С 84-92;

219. Martikainen P.J. Heterotrophic nitrification-An eternal mystery in the nitrogen cycle / P.J. Martikainen // *Soil Biology Biochemistry*. – 2022. – Vol. 168 (108611);

220. Лыжина Н.В. Экономическое обоснование курсовых и дипломных проектов: методические указания / сост.: Н.В. Лыжина, Ю.В. Пантелеева, М-во образ. и науки России, казан. нац. исслед. технол. ун-т. – Казань: Изд-во КНИТУ – 2013. – 92 с;

221. Барышева Ю.Н. Бизнес-план для обоснования дипломных проектов и работ: Метод. указания для технико-экономических расчетов / сост.: Ю.Н. Барышева, Е.П. Логинова Казанский государственный технологический университет. – Казань – 2003. – 28с;

222. Moreira G. Process simulation and economic evaluation of pyrolysis and hydrothermal liquefaction as alternatives for the valorization of wood waste from the pulp and paper industry / G. Moreira, G. Costa, R. Cavalcante [et al.] // *Energy Conversion and Management*. – 2025. – Vol. 325 (119387);

223. Jiao Y. Hydrothermal liquefaction of pig carcasses to biofuel: A techno-economic analysis / Y. Jiao, C. Chang, G. Xu [et al.] // *Process Safety and Environmental Protection*. – 2024. – Vol. 185. – P. 173-183;

224. Правительство Российской Федерации. О ставках платы за негативное воздействие на окружающую среду в 2026–2030 годах и внесении изменений в Распоряжение Правительства РФ от 10.07.2025 № 1852-р: распоряжение от 01.09.2025 № 2409-р (ред. от 26.12.2025) // *Собрание законодательства Российской Федерации*. – 2025. – № 36.

225. Временная методика определения предотвращенного экологического ущерба: утв. Госкомэкологии РФ 09.03.1999. – М., 1999. – 56 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А1 – Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК изолята S2

Изолят	Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК
S2	GAACTGAAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAAC ACATGCAAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGCTCCTGAATTCAGCGGCGGAC GGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTTCGAAA GGAACGCTAATACCGCATAACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGC CTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGC TCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGG AACTGAGACACTTTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGA CAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCG GATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGTTGTAGATTAATACTCTGCAA TTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCG GTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCGCG TAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGC ATCCAAAACCTGGCGAGCTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGGAGTTTCCTGTGTA GCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACC TGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTG AGCTCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCC GCAAGGTAAAACCTCAAAGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCAT GTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGA ACTTTCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATG GCTGTTCGTACGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCA ACCCTTGTCTTAATTACCAGCACGTTATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCC GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACTTCAAGTCATCATGGCCCTTAC GGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCCGTACAAAGGGTTGCCAAGCCG CGAGGTGGAGCTAATCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGTAA CTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGGGAATCAGAATGTCGCGGT GAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTT GCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATT CATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGATGCATGCATGCATGCACGTACGTA CGTACGTACGTACGT

Таблица А2 – Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК изолята S7

Изолят	Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК
S7	GATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAA CGATGATCCCAGCTTGCTGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGA GTAACCTGCCCTTGACTCTGGGATAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGAT ATGACTCCTCATCGCATGGTGGGGGGGTGGAAGCTTTTGTGGTTTTGGATGGA CTCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGG GTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAG ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGA TGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAANTCCTCTT CAGTAGGGAAGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAAT ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTATCCGGAATTATT GGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGGTCTGCTGTGAAAGACCGGGG CTCAACTCCGGTTCTGCAGTGGGTACGGGCAGACTAGAGTGCAGTAGGGGAG ACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCG ATGGCGAAGGCAGGTCTCTGGGCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATG GGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGCA CTAGGTGTGGGGGACATTCCACGTTTTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGTG CCCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGG GCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACC TTACCAAGGCTTGACATGAACCGGAAAGACCTGGAAACAGGTGCCCGCTTG CGGTCGGTTTACAGGTGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTT GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTTCTATGTTGCCAGCGGTTCCGG CCGGGGACTCATAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGA CGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTACAATGGCC GGTACAAAGGGTTGCGATACTGTGAGGTGGAGCTAATCCCAAAAAGCCGGTC TCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTA ATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCG CCCGTCAAGTCACGAAAGTTGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCTTGT GGGGGGAGCCCGTCAAGGTGGGACCGGCGATTGGGACTAAGTCGTAACAAG

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

ТАТАРСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
АКЦИОНЕРЛЫК ЖӘМГҮЯТЕ

«ЗВКС»

422541, ЗЕЛЕНОДОЛ ШӘҺӘРЕ,
КУЛЛЕ УРАМ, 48
ТЕЛ. 8(84371) 4-85-17, 4-85-20
E-mail: aozvks@mail.ru



РЕСПУБЛИКА ТАТАРСТАН
АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО

«ЗВКС»

422541, г. ЗЕЛЕНОДОЛЬСК,
ул. ОЗЕРНАЯ, 48
ТЕЛ. 8(84371) 4-85-17, 4-85-20
E-mail: aozvks@mail.ru

Отделение № 8610 Сбербанка России г. Казань р/с 40702810362480001018 к/с 30101810600000000603 БИК 049205603
ИНН 1648041104 КПП 164801001 Код ОКАТО 92420000000 Код ОКТМО 92628101001
Код ОКОГУ 4210014 Код ОКФС 16 Код ОКОПФ 12267

№ 1511 « 19 » 11 20 25 г.
На № _____ от « _____ » 20 _____ г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «ЗВКС»

Р.Р. Залялов

« 19 » _____ 2025 г.



Акт о намерении внедрения результатов диссертационной работы

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования Клементьева Святослава Владимировича по изучению совместной очистки коммунально-бытовых сточных вод с водной фазой гидротермального оживления избыточного активного ила, являются практически важными для снижения негативного эффекта от складирования осадков сточных вод на иловых картах и рациональной утилизации осадков.

Для биологических очистных сооружений (БОС) г. Иннополис рассчитано, что при гидротермальном оживлении осадков сточных вод для суточного расхода сточных вод 950-1000 м³/сут количество образующийся водной фазы составляет в среднем 17,4 м³/сут.

Экспериментально показано, что для процесса совместной биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод с водной фазой гидротермального оживления эффективность удаления органических соединений по ХПК составляет 94 %). Кроме того, было показано, что внесение водной фазы не более 1,5 % от объема смешанного потока сточных вод способствует повышению дегидрогеназной активности ила, в среднем, на 12 % (рисунок 1), а