

На правах рукописи



Клементьев Святослав Владимирович

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

1.5.6. Биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Казань – 2026

Работа выполнена на кафедре промышленной биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

Научный руководитель: доктор технических наук, профессор,
Сироткин Александр Семенович

Официальные оппоненты: **Арляпов Вячеслав Алексеевич**, доктор технических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тульский государственный университет», директор научно-исследовательского центра «БиоХимТех»;
Дворецкий Дмитрий Станиславович, доктор технических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тамбовский государственный технический университет», заведующий кафедрой технологии и оборудования пищевых и химических производств

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.

Защита диссертации состоится «23» сентября 2026 г. в 16:00 на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.028.02, созданного на базе ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68, зал заседаний Ученого Совета (А-330).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» и на сайте https://www.kstu.ru/event.jsp?id=182253&id_cat=141&idparent=0.

Автореферат разослан « » июля 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
99.2.028.02



Хабибрахманова
Венера Равилевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время в Российской Федерации более 90 % осадков сточных вод складывается 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). 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 ожежения. Исследования по гидротермальному ожежению осадков сточных вод и биомассы избыточного ила становятся все более актуальными в последние 10 лет, о чем свидетельствует рост публикационной активности по изучаемому направлению. Широкое внедрение метода гидротермального ожежения сдерживается рядом факторов, один из которых – образование значительного количества водной фазы (до 90 % от массы входящего потока). Состав сточных вод (водной фазы), согласно опубликованным данным, 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 ожежения с оценкой возможности совместной биологической очистки сточных вод от процессов гидротермального ожежения и коммунальных стоков является актуальной задачей.

Степень разработанности темы. В настоящее время значительный интерес представляют исследования, направленные на возможность утилизации компонентов водной фазы, образующейся в ходе процесса гидротермального ожежения 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 отдельные компоненты водной фазы. Кроме того, в результате анализа предметной литературы выявлено, что недостаточно исследован процесс совместного биообезвреживания водной фазы с коммунально-бытовыми сточными водами. Наконец, необходимыми являются целенаправленные исследования по культивированию микроорганизмов активного ила на водной фазе процесса гидротермального ожежения 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 ожигения избыточного активного ила. Обосновать техническое предложение по внедрению технологии гидротермального ожигения на биологических очистных сооружениях г. Иннополис.

Научная новизна.

1. Показано, что в составе водной фазы гидротермального ожигения 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 glycinea* (S2), *Paenarthrobacter nicotinovorans* (S7), *Comamonas testosteroni* (S11) составляла 69 %, 73 % и 75 % соответственно.
3. Проведены оригинальные исследования по оценке способности изолированных микробных культур *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* 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 ожигения 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, расширят представления о составе и свойствах водной фазы, полученной в процессе гидротермального охижения биомассы избыточного активного ила, и способах ее биодеструкции с использованием различных микроорганизмов, в том числе специализированных бактериальных культур, сообществе 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 охижения осадков сточных вод. Было рассчитано, что при гидротермальном охижения 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 охижения 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 реактора ГТО с последующим биологическим обезвреживанием водной фазы с поступающими сточными водами.

Методология и методы исследований. 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 охижения 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 охижения 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 ($K_N=0,54$), 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 охижения даст возможность 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 «OpenBio» (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 создание систем биокомпостирования различных отходов, очистки техногенных отходов (сточных вод, газовых выбросов и др.), создание замкнутых технологических схем 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность выбранной темы исследования, сформулирована цель и задачи диссертационной работы, решения которых способствует ее достижению. Представлена научная новизна исследования, показана теоретическая и практическая значимость полученных результатов, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе проведен аналитический обзор литературных источников по теме исследования. Описан количественный и качественный состав водной фазы, полученной в ходе гидротермального оживления (ГТО) различного органического сырья. Рассмотрены основные пути обезвреживания водной воды с использованием биологических объектов и их основные преимущества, и недостатки.

Во второй главе описаны объекты и методы исследования. Объекты исследования – водная фаза, полученная в ходе гидротермального оживления органических осадков очистных сооружений; изоляты микроорганизмов, способных к деструкции компонентов водной фазы, выделенные из сообщества активного ила нефтехимического производства; культуры микроводорослей, взятых 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; *Nannochloris sp.* – C1509); активный ил очистных сооружений г. Иннополис (Республика Татарстан).

Процесс гидротермального оживления осуществляли в реакторе автоклавного типа Eartha Zhang's (Китай). Температура процесса составляла от 240 до 280 °C, время реакции 10-60 минут, давление 3,2-6,5 МПа.

Интегральную токсичность водной фазы оценивали с помощью стандартных тест-объектов *Paramecium caudatum* и *Artemia salina*. Физико-химические показатели водной фазы оценивали по стандартным методикам определения значений ХПК, БПК, содержания общего органического углерода. Качественный состав анализировали с помощью ГХ-МС и ЯМР-спектроскопии.

Выделение микроорганизмов деструкторов водной фазы из сообщества активного ила очистных сооружений ПАО «Нижнекамскнефтехим» (г. Нижнекамск, Республика Татарстан) проводилось высевом разведенной надиловой жидкости по методу Коха на плотные питательные среды, содержащие в качестве источника углерода и биогенных элементов только компоненты водной фазы. Инкубация культур осуществлялась в термостате при 37 ± 1 °C в течение 72 ч. Изоляты, проявляющие высокую способность к обезвреживанию компонентов водной фазы, были идентифицированы методом анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Способность микроорганизмов к формированию биопленок на водной фазе оценивали на планшетном риддере «Feyond-A300» (Allsheng, Китай) с использованием красителя генцианфиолетового. В дальнейшем культуры, которые формировали наиболее плотные биопленки, использовали в биосорбционной системе цеолитом для повышения эффективности очистки.

Культивирование микроводорослей на водной фазе осуществляли в качалочных колбах в течение 7 суток с 12 часовым чередованием фазы «день-ночь». В процессе культивирования ежедневно контролировались такие параметры как прирост биомассы, а также удаление биогенных элементов (NH_4^+ , PO_4^{3-}) и органических соединений по ХПК.

С целью установления возможности очистки водной фазы с коммунально-бытовыми сточными водами с активным илом по стандартным методикам определялись такие параметры сточной воды как концентрация органических веществ по ХПК и БПК₅, PO_4^{3-} , NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , растворенного кислорода, а также индексы биоразнообразия ила и его дегидрогеназная активность.

В третьей главе оценен количественный и качественный состав водной фазы и токсичность ее компонентов с использованием стандартных тест-объектов *Paramecium caudatum* и *Artemia salina*.

В таблице 1 представлены результаты исследования основных физико-химических показателей водной фазы, образующейся в процессе гидротермального ожижения отдельных образцов осадков сточных вод.

Таблица 1 – Физико-химические показатели водной фазы процесса гидротермального ожижения

Сырье для ожижения	pH	ХПК, г О/дм ³	БПК ₅ , г О ₂ /дм ³	KP ₅₀ <i>Paramecium</i> <i>caudatum</i>	KP ₅₀ <i>Artemia</i> <i>salina</i>
Избыточный ил	7,14±0,35	8,0±0,9	6,7±1,1	61,5	80,3
Избыточный ил (*цеолит)	7,37±0,36	10,0±0,7	8,0±0,4	51,2	84,1
Осадок первичных отстойников (*CuSO ₄)	6,78±0,33	12,0±1,4	7,8±0,9	51,7	72
Осадок первичных отстойников (*NiSO ₄)	7,23±0,36	14,0±0,5	7,9±0,7	81,7	142,2
*катализатор процесса ГТО указанного сырья					

Результаты исследований показали, что значения pH водной фазы представленных образцов варьировали в диапазоне от 6,78 до 7,37 в зависимости от условий проведения ГТО. Все образцы характеризовались высоким содержанием органических веществ. Установлено, что значения ХПК находятся в диапазоне от 8,0 до 14,0 г О/дм³, а БПК₅ – от 6,7 до 8,0 гО₂/дм³. Высокое содержание органических веществ и их биодоступность указывают на перспективность использования биологических методов очистки.

В ходе оценки интегральной токсичности водной фазы самым токсичным оказался образец, полученный с использованием катализатора NiSO₄ (KP₅₀ = 81,7 для *P. caudatum* и 142,2 для *A. salina*), что может быть обусловлено синергетическим эффектом органических загрязнителей и ионов тяжёлых металлов. Образцы, полученные с цеолитом и без катализатора, характеризовались значительно меньшей токсичностью для инфузорий (KP₅₀ = 51,2-61,5) и рачков (KP₅₀ = 72-84,1) Установлено, что применение солей металлов

в качестве катализаторов ГТО приводит к образованию более токсичной водной фазы, что необходимо учитывать при выборе способов её последующего обезвреживания.

Исходя из соотношения БПК к ХПК, наилучшим вариантом для биологической деструкции является образец водной фазы, полученной при гидротермальном ожигении активного ила без использования катализаторов.

Следующий этап экспериментальных исследований состоял в оценке качественного состава водной фазы с использованием ГХ-МС и ЯМР-спектроскопии.

По результатам качественного анализа водной фазы методом ГХ-МС были обнаружены следующие соединения % от массы: уксусная кислота (43,73), фенол (30,52), декановая кислота (8,06), бутановая кислота (6,85), изобутановая кислота (3,98), пентановая кислота (3,10), 4-пиридинуксусная кислота (1,70), пиридин (1,07), 4-метилфенилбензамид (0,91).

Показано, что большую часть органических соединений составляют карбоновые кислоты и ароматические соединения, меньшую долю занимают амиды и их производные. Результаты ЯМР-спектроскопии коррелировали с результатами ГХ-МС.

Результаты физико-химического анализа подтвердили наличие в водной фазе значительного количества водорастворимых органических соединений, требующих предварительного удаления перед сбросом в канализационную сеть или природные водоемы. Установлено, что большинство идентифицированных компонентов (карбоновые кислоты, фенол и его производные) способны эффективно подвергаться биологической деструкции, что обосновывает выбор биотехнологического подхода для их обезвреживания.

В четвертой главе оценивалось аэробное обезвреживание водной фазы процесса гидротермального ожигения избыточного активного ила с помощью микробных культур.

Методом последовательных пересевов на плотные селективные среды, содержащие водную фазу в качестве единственного источника углерода и биогенных элементов, было получено 11 бактериальных изолятов, пронумерованных от S1–S11. Первичная идентификация выделенных культур проводилась на основании комплекса культурально-морфологических признаков (форма, размер, цвет колоний, характер роста на агаризованных средах), результатов окрашивания по Граму, а также физиолого-биохимических тестов (способность к росту на различных источниках углерода, наличие гидролитических ферментов, способность к ассимиляции различных форм азота). По совокупности указанных признаков установлено, что изоляты S1–S11 относятся к различным таксономическим группам.

После получения изолятов оценивали их способность к обезвреживанию компонентов водной фазы в условиях периодического культивирования. Культивирование проводили в течение 48 ч при разбавлении водной фазы в 10 раз.

Наиболее активными изолятами, способными активно потреблять компоненты водной фазы, являлись S2, S7 и S11 (рисунок 1).

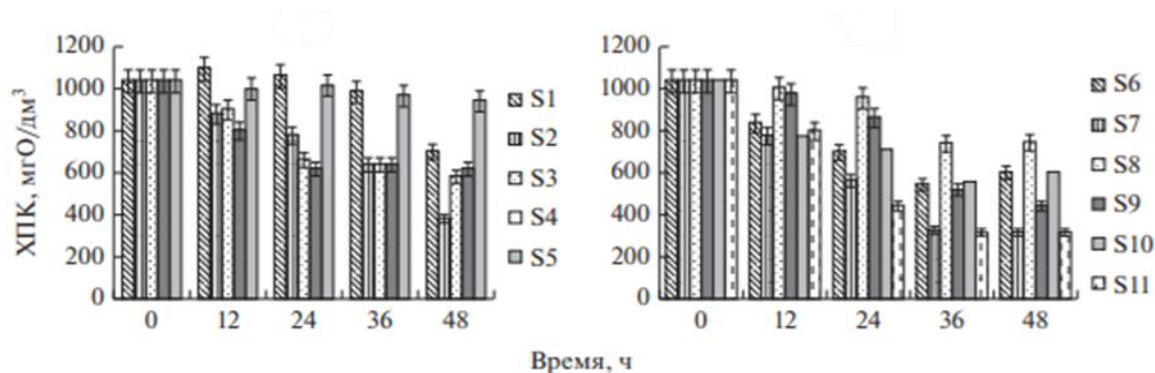


Рисунок 1 – Кинетика изменения ХПК в процессе периодического культивирования исследуемых изолятов

Степень биодеструкции с их участием составляла 69 %, 73 % и 75 % от начального значения ХПК, соответственно. Помимо высокой эффективности очистки водной фазы, изоляты S2, S7 и S11 показали лучший прирост биомассы по сравнению с другими культурами. На основании этих факторов указанные изоляты были отобраны для дальнейшей работы.

Согласно нуклеотидной последовательности изолят S2 имеет наибольший уровень сходства с *Pseudomonas glycinea* (99,52 %); S7 и S11 с *Paenarthrobacter nicotinovorans* (99,8 %) и *Comamonas testosteroni* (99,6 %), соответственно.

С целью повышения эффективности биообезвреживания водной фазы был исследован процесс биосорбционной очистки с культивированием изолятов в присутствии сорбентов. Предварительно была оценена способность культур к формированию биопленок на водной фазе (рисунок 2).

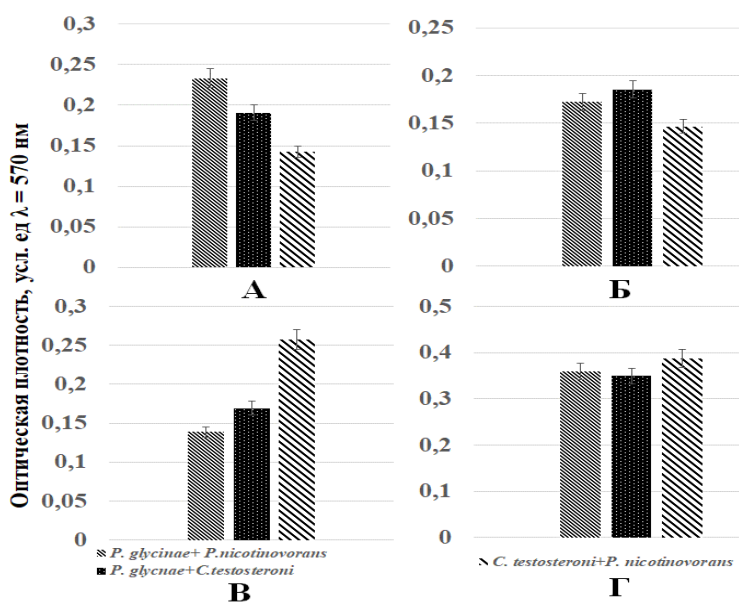


Рисунок 2 – Образование биопленок бинарными культурами на средах с различным содержанием водной фазы процесса гидротермального охижения избыточного активного ила:
А – 10 %; Б – 20 %; В – 33 %;
Г – 50 %

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 50 % (0,394 усл.ед), по сравнению с парами *P. nicotinovorans*+*P. glycinea* и *P. glycinea*+*C. testosteroni*. 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 (рисунок 3).

Для проведения биосорбционного эксперимента водную фазу разводили в 2 раза, т.к. изучаемые культуры формировали биопленку при содержании водной фазы 50 % (рисунок 2).

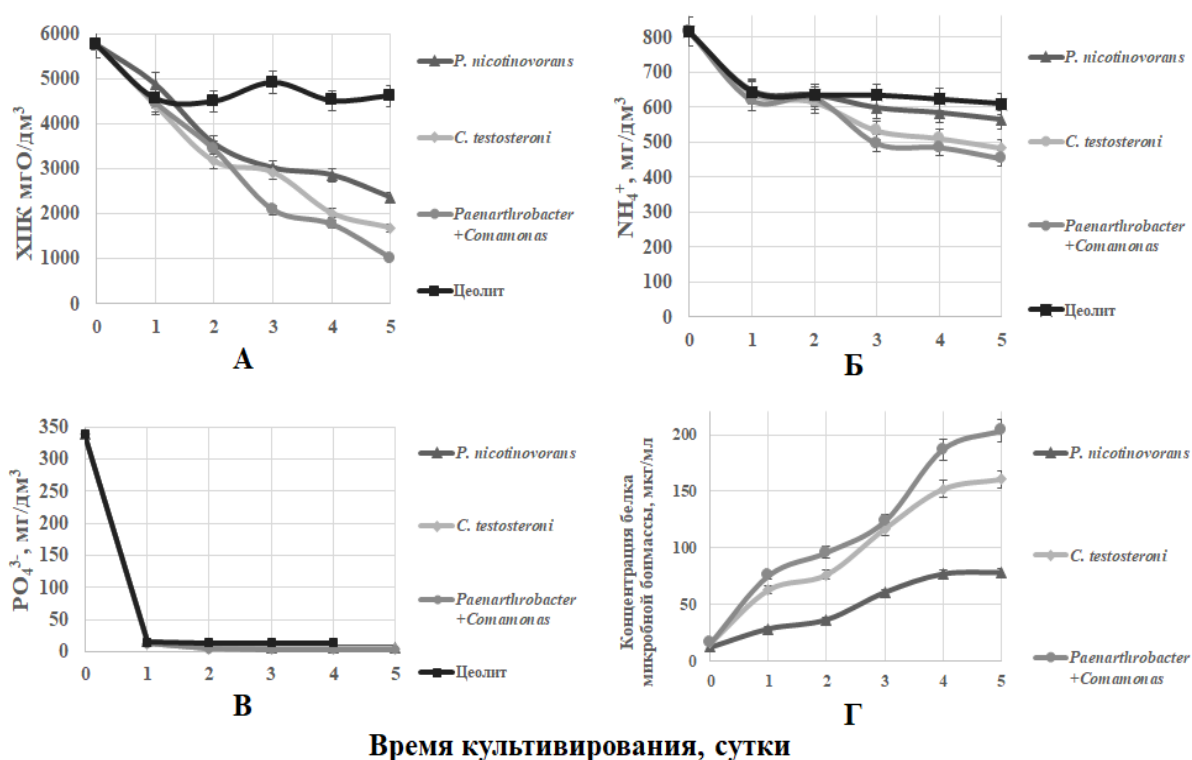


Рисунок 3 – Результаты культивирования изучаемых культур в биосорбционной системе с цеолитом: А – ХПК; Б – NH_4^+ ; В – PO_4^{3-} ; Г – прирост биомассы

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 потреблению субстрата составила 81 %, что на 21 и 11 % больше, чем при культивировании *P. nicotinovorans* и *C. testosteroni* в виде монокультур, соответственно.

Средняя эффективность удаления NH_4^+ смешанными культурами составила 41 %, большую часть из которых адсорбировал цеолит. Интересные результаты показал цеолит по удалению PO_4^{3-} : эффективность адсорбции по PO_4^{3-} составила 97 %, с учетом культивирования бактерий – 99 %.

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.

В пятой главе изучалась возможность использования микроводорослей для доочистки водной фазы от биогенных элементов. Первоначально был проведен скрининг изучаемых культур микроводорослей (см. вторую главу, с. 6) на их способность к росту на водной фазе гидротермального ожижения избыточного активного ила (рисунок 4).

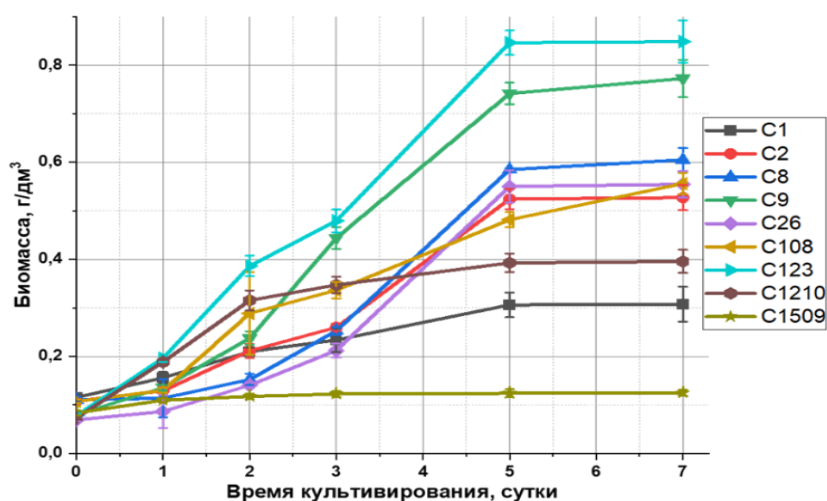


Рисунок 4 – Кривые роста исследуемых культур микроводорослей при культивировании на водной фазе

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 культивирования. Вероятно, это связано с тем, что компоненты водной фазы отличались для них меньшей токсичностью, и их ферментативная система быстро адаптировалась к условиям среды.

На 5 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 *Nannochloris* sp. IPPAS C-1509, для которого незначительный рост наблюдался на начальном этапе культивирования.

На рисунке 5 представлена эффективность удаления микроводорослями органических соединений и биогенных элементов.

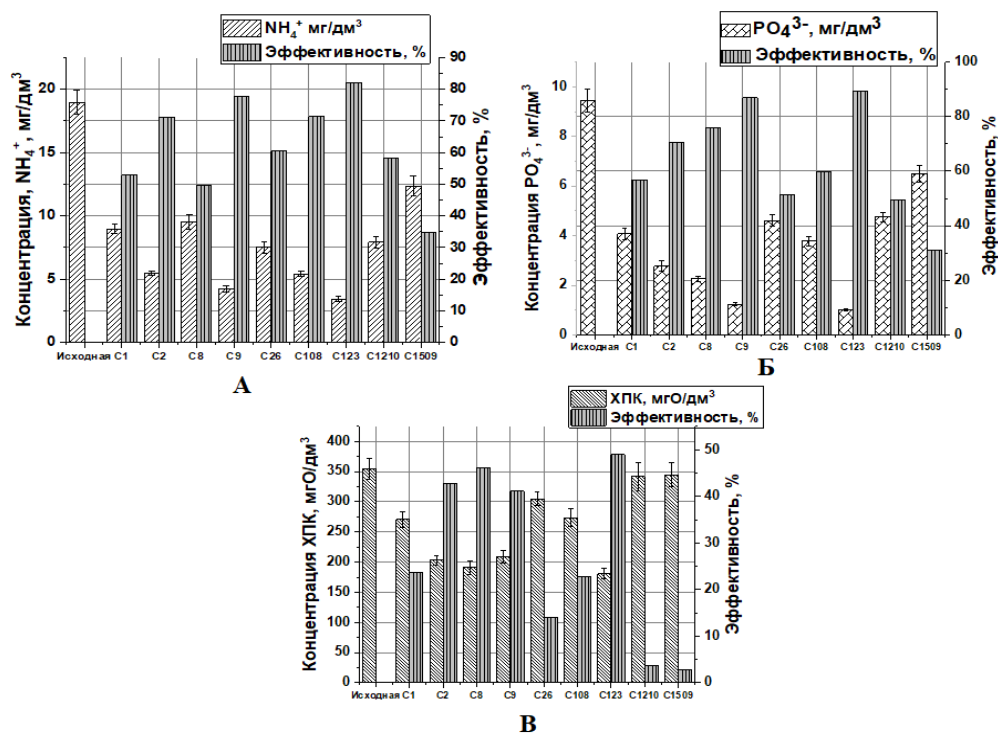


Рисунок 5 – Эффективность удаления загрязняющих веществ микроводорослями: А – NH_4^+ ; Б – PO_4^{3-} ; В – ХПК

По удалению NH_4^+ лучшие результаты показали штаммы *P. kessleri* C-9 и *S. minutissima* C-123. Концентрация NH_4^+ снизилась с 18,9 мг/дм³ до 4,1 и 3,8 мг/дм³ соответственно, эффективность составила 78 % и 81 %. Остальные культуры удаляли NH_4^+ менее активно (30–60 %).

Наиболее активным по ассимиляции PO_4^{3-} оказался штамм *S. minutissima* C-123, эффективность удаления PO_4^{3-} достигла 91 %. Сравнимую эффективность (89 %) проявил штамм *P. kessleri* C-9. Другие культуры уступали исследуемым культурам по эффективности удаления PO_4^{3-} .

Степень удаления ХПК для всех культур варьировала в узком диапазоне от 16 до 42 %, что указывает на ограниченную способность микроводорослей к окислению сложных органических соединений водной фазы. Таким образом, микроводоросли являются эффективными для изъятия биогенных элементов, но не для удаления органических соединений из среды.

На основании результатов скрининга для доочистки водной фазы ГТО были выбраны культуры *P. kessleri* C-9 и *S. minutissima* C-123. Предварительную бактериальную обработку водной фазы осуществляли совместным культивированием *P. nicotinovorans* и *S. testosteroni*. Это обеспечило снижение ХПК на 82 %, однако удаление NH_4^+ и PO_4^{3-} не превышало 27 %.

Далее водную фазу, предварительно обработанную бактериями, инокулировали микроводорослями (рисунок 6). Как показано на рисунке 6, это позволило достичь удаления PO_4^{3-} до 86 % и обеспечить прирост биомассы

водорослей на 30 % по сравнению с непосредственным культивированием на необработанной водной фазе. За 17 суток двухэтапной очистки суммарное снижение концентраций загрязняющих веществ составило: по ХПК с 2554 до 327 мгО/дм³, по NH_4^+ с 289,8 до 51,1 мг/дм³, по PO_4^{3-} с 116 до 11,3 мг/дм³.

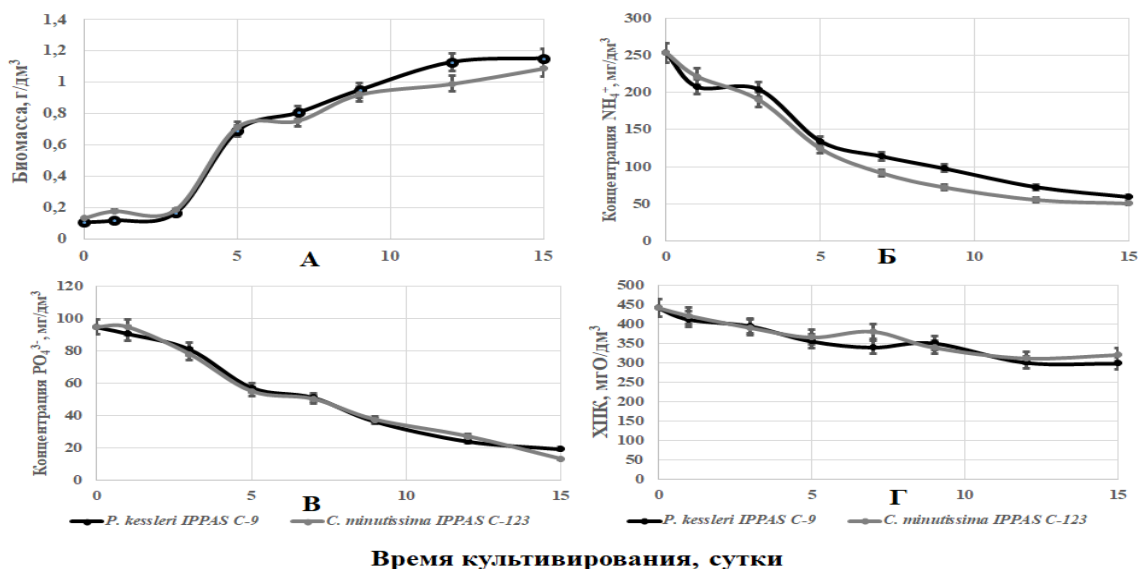


Рисунок 6 – Результаты обезвреживания водной фазы микроводорослями после бактериальной обработки: А – прирост биомассы; Б – NH_4^+ ; В – PO_4^{3-} ; Г – ХПК

Таким образом, комбинированная схема «бактериальная деструкция + культивирование микроводорослей» обеспечивает синергетический эффект с глубоким удалением как органические загрязнения, так и биогенные элементы. Данный подход может быть рекомендован для глубокой доочистки водной фазы на локальных очистных сооружениях.

В шестой главе обсуждается возможность проведения совместной биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод с водной фазой гидротермального ожежения их осадков.

Объектом исследования служил активный ил БОС г. Иннополис. Согласно производственным данным, при переработке избыточного ила и осадков первичных отстойников на ГТО будет образовываться 15-17,4 м³/сут водной фазы, что при среднесуточном расходе сточных вод 950-1000 м³/сут соответствует максимальной концентрации водной фазы в смеси 1,74 % (об.). Для экспериментального культивирования активного ила были выбраны концентрации водной фазы 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 и 3,0 % (об.).

На рисунке 7 представлена динамика изменения ХПК и дегидрогеназной активности ила в ходе периодического культивирования.

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 адаптировались к трудноокисляемому субстрату. Этот вывод подтверждается результатами определения дегидрогеназной активности образцов активного ила.

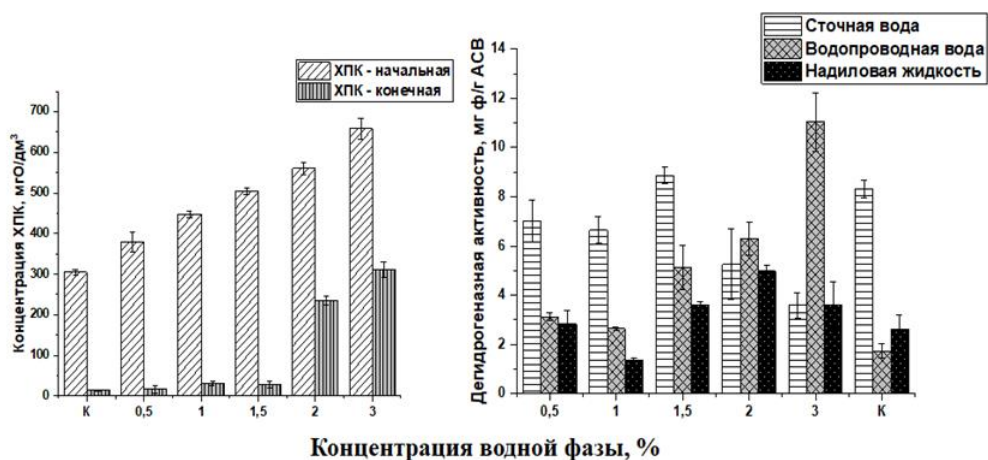


Рисунок 7 – Изменение концентрации органических веществ по ХПК и дегидрогеназной активности в процессе периодического культивирования активного ила с добавлением водной фазы

Результаты биотрансформации соединений азота в ходе периодического культивирования представлены на рисунке 8.

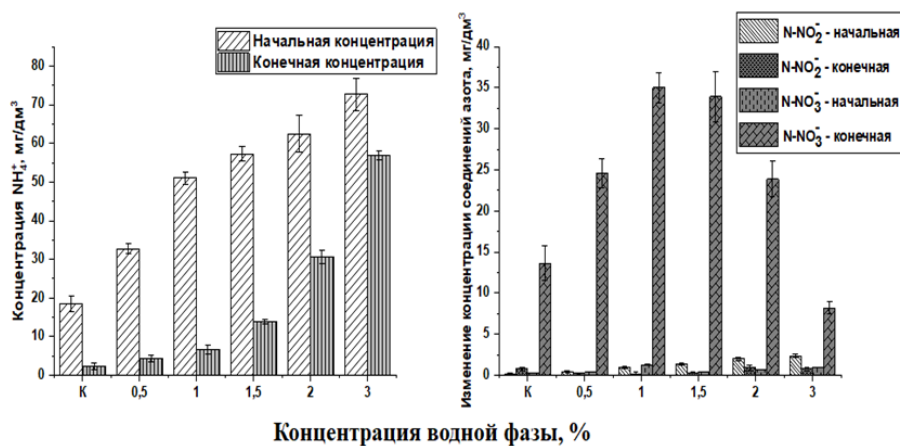


Рисунок 8 – Изменение концентрации соединений азота в ходе периодического культивирования активного ила с добавлением водной фазы

При внесении водной фазы в концентрации 0,5-1 % эффективность удаления NH_4^+ сохраняется на уровне контроля. Наиболее интенсивно нитрификация протекает при 1-1,5 %, что позволяет рекомендовать 1,5 % как оптимальную концентрацию. Повышение дозировки до 2 % и выше подавляет первую стадию нитрификации, вероятно, вследствие ингибирования ферментов компонентами водной фазы. Таким образом, диапазон 1-1,5 % (об.) является неингибирующим для активного ила в процессе биоокисления.

Для оценки хронического влияния водной фазы на биоценоз активного ила было проведено 10 суточное отъемно-доливное культивирование с добавлением водной фазы в концентрациях 0,5; 1,5 и 1,8 %. Каждые 24 ч отбирали 300 мл надосадочной жидкости и вносили свежую порцию среды. Динамика изменения ХПК представлена на рисунке 9.

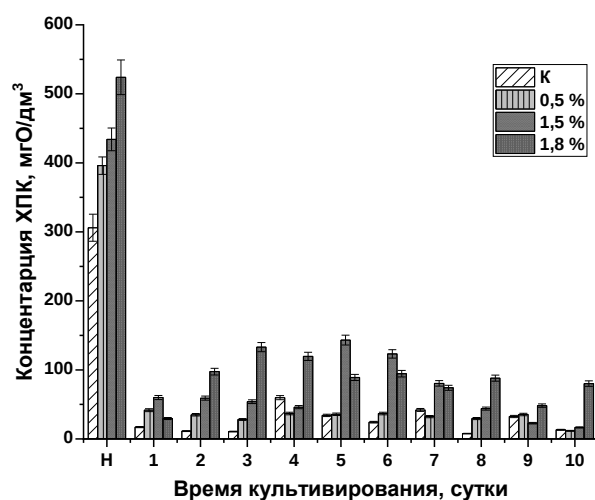


Рисунок 9 – Изменение концентрации ХПК в ходе отъемно-доливного культивирования активного ила (Н – начальная концентрация)

Отмечено, что по истечении 6-8 суток наступала 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 достигала максимального значения к 8 суткам культивирования (87,8 %).

На рисунке 10 приведены результаты биотрансформации азота в течение 10 суток исследуемой очистки в отъемно-доливном режиме.

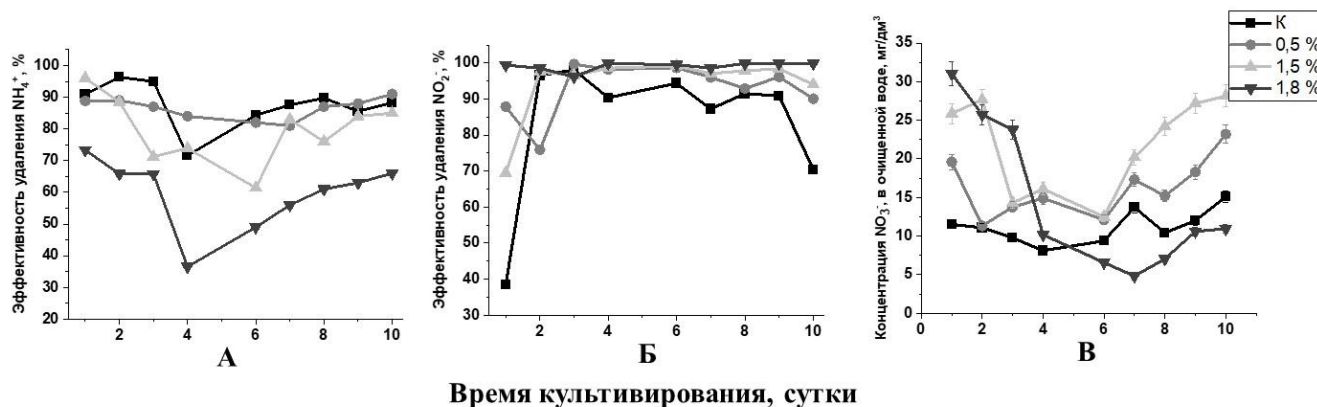


Рисунок 10 – Изменение концентрации соединений азота в ходе отъемно-доливного культивирования активного ила: А – эффективность удаления NH_4^+ , Б – эффективность удаления NO_2^- , В – концентрация NO_3^- в очищенной воде

При внесении 0,5 % водной фазы гидротермального оживления наблюдалась стабильная биотрансформация NH_4^+ в NO_2^- и далее в NO_3^- , а при добавлении 1,5 % адаптация активного ила отмечена лишь на 6-ые сутки культивирования, что коррелирует с результатами анализа по изменению ХПК (рисунок 9).

Однако следует отметить, что при концентрации водной фазы 1,8 % в среде процесс биоокисления NH_4^+ протекает с меньшей эффективностью, чем при концентрации 0,5 % и 1,5 %. Вероятно, это связано с тем, что гетероциклические азотсодержащие вещества значительно в меньшей степени угнетают ферментативную систему нитрифицирующих микроорганизмов второй стадии, так как эти бактерии менее чувствительны к наличию органических соединений в сточной воде. Из полученных результатов следует, что для повышения эффективности биоокисления NH_4^+ при более высоких количествах добавляемой водной фазы (1,8 % и выше) необходима предварительная обработка водной фазы с использованием сильных окислителей или сорбционных материалов.

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

На основании результатов проведенных лабораторных исследований по смешению водной фазы с коммунально-бытовыми сочными водами было разработано техническое предложение для БОС г. Иннополис. На рисунке 11 представлена модернизированная принципиальная технологическая схема БОС г. Иннополис с реактором для гидротермального оживления.



Рисунок 11 – Принципиальная технологическая схема БОС г. Иннополис с реактором ГТО, * циркулирующий активный ил (ЦАИ), **осадок первичного отстойника, ***осадок вторичного отстойника

В ходе процесса гидротермального оживления 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 950-1000 м³/сут.

Водная фаза в полном объеме поступает в первичный отстойник, а затем в денитрификатор/аэротенк, где происходит ее смешение с циркулирующим активным илом. Такое технологическое действие позволяет решить несколько проблем: компоненты водной фазы являются источником доступного углерода для денитрифицирующих микроорганизмов активного ила, что полностью исключает потребность во внешнем добавлении легкодоступных органических веществ (например, глицерина); повышается ферментативная активность микроорганизмов активного ила в среднем на 12 % (см. рисунок 7); снижается нагрузка на узел механического обезвоживания осадков сточных вод за счет выводимой биомассы.

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 отсутствует необходимость в закупке дополнительного источника углерода, в частности, глицерина для подпитки денитрифицирующих микроорганизмов активного ила, так как водная фаза содержит в себе легкодоступные органические соединения.

В седьмой главе был произведен расчет экономических показателей (расчет проводили на 10 лет) при интеграции ГТО на очистных сооружениях г. Иннополис и рассчитан предотвращенный экологический ущерб. Дополнительную прибыль предприятие получает за счет продажи «бионефти» и «биоугля», которые будут получены в ходе процесса гидротермального ожижения избыточного ила и осадков первичных отстойников.

Индекс доходности проекта (PI) равен 1,56, что говорит об инвестиционной привлекательности проекта. С учетом начальных показателей и чистой приведенной стоимости показатель внутренняя норма доходности составляет 28 %. Средний период окупаемости с учетом ставки дисконтирования составит 38 месяца. Чистый дисконтированный доход за 10 лет – 12,97 млн. рублей.

Суммарный предотвращенный экологический ущерб при утилизации избыточного активного ила и биологической очистки водной фазы составил 1 143 тыс. руб./ год.

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 «Нижнекамскнефтехим». 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, NH_4^+ с $289,8 \pm 14,9$ до $51,1 \pm 2,22$ мг/дм³, PO_4^{3-} 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 ($\text{KN}=0,54$), 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 ожежения. В ходе гидротермального ожежения 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 ($\text{PI} = 1,56$), 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 ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus, WoS:

1. Kulikova Y. Aqueous Phase from Hydrothermal Liquefaction: Composition and Toxicity Assessment / Y. Kulikova, **S. Klementev**, A. Sirotkin, I. Mokrushin, M. Bassyouni, Y. Elhenawy, M. El-Hadek, O. Babich // Water. – 2023. – Vol.15. – № 9. Art. 1681. (Scopus (Q1)).

2. **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. (WoS, БAK (K2)).

3. **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. (BAK (K1); WoS, Scopus (Q3)).

*Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных
ВАК Минобрнауки России по специальности
1.5.6. Биотехнология (технические науки):*

4. **Клементьев С.В.** Адсорбция компонентов водной фазы процесса гидротермального ожижения биомассы активного ила с использованием минерального и углеродного сорбента / **С.В. Клементьев**, А.С. Сироткин // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т. 76. – №. 11. – С. 115-127. (BAK (K2)).

5. **Клементьев С.В.** Обезвреживание компонентов водной фазы гидротермального ожижения избыточного активного ила в биосорбционных системах / **С.В. Клементьев**, А.С. Сироткин, А.А. Хасанова, Ю.В. Куликова // Бутлеровские сообщения. – 2024. – Т. 77. – №. 3. – С. 113-121. (BAK (K2)).

6. **Клементьев С.В.** Биобезвреживание 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. (BAK (K2)).

Публикации в сборниках научных трудов и материалов конференций:

7. **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.

8. **Клементьев С.В.** Оценка эффективности микробной деструкции компонентов водной фазы, полученной при гидротермальном ожижении биомассы активного ила / **С.В. Клементьев**, Ю.В. Куликов, А.С. Сироткин // Сборник тезисов докладов Всероссийского форума молодых исследователей «ХимБиоSeason». – 2023. – С. 32.

9. **Клементьев С.В.** Эффективность биодеструкции компонентов водной фазы гидротермального охижения 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.

10. **Клементьев С.В.** Оценка эффективности микробной деструкции компонентов водной фазы процесса гидротермального охижения избыточной биомассы активного ила / **С.В. Клементьев** // Сборник тезисов докладов VIII Всероссийского молодежного научного форума «Наука будущего – наука молодых». – 2023. – С. 135.

11. **Клементьев С.В.** Способность бактерий к образованию биопленок на водной фазе процесса гидротермального охижения 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.

12. **Клементьев С.В.** Экспериментальная оценка образования биопленок на водной фазе процесса гидротермального охижения / **С.В. Клементьев**, Ю.В. Куликова, А.С. Сироткин // Сборник тезисов XXXVI международной зимней молодежной научной школы «перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии». – 2024. – С. 112.

13. **Клементьев С.В.** Биообезвреживание водной фазы процесса гидротермального охижения 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.

14. **Клементьев С.В.** Культивирование микроводорослей на водной фазе гидротермального охижения 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.

15. **Клементьев С.В.** Характеристика микробных изолятов в процессе обезвреживания водной фазы гидротермального охижения 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.

16. **Клементьев С.В.** Биоутилизация водной фазы гидротермального охижения 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.