

На правах рукописи



Хасанова Айгуль Айратовна

**ПРОЦЕССЫ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ
ФОСФАТ АККУМУЛИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ
В СООБЩЕСТВАХ АКТИВНОГО ИЛА И БИОПЛЕНКИ**

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: **Каленов Сергей Владимирович**, доктор технических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», профессор кафедры биотехнологии;
Кулаковская Татьяна Валентиновна, доктор биологических наук, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук – обособленное подразделение федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тульский государственный университет», г. Тула.

Защита диссертации состоится «23» сентября 2026 г. в 14:00 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 Равиловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одним из главных инициаторов процесса эвтрофикации является сброс недостаточно очищенных коммунально-бытовых сточных вод в водные экосистемы. При этом отмечается, что в составе сточных вод одним из основных биогенных элементов, стимулирующим рост сине-зеленых водорослей, что в дальнейшем способствует заторфовыванию природных водоемов, является фосфор. Содержание общего фосфора в сточных водах, поступающих на городские очистные сооружения, варьирует, в среднем, в диапазоне от 4 до 12 мг/дм³.

Перспективным направлением в развитии технологий глубокого удаления соединений фосфора является использование биопленочных реакторов с различными видами загрузочных материалов. Биопленка образуется микробным сообществом и сопровождается синтезом сигнальных молекул для коммуникации и регуляции генов между бактериями («чувство кворума»), что в дальнейшем способствует быстрой адаптации клеток к негативным факторам окружающей среды.

Применение иммобилизованных клеток для очистки сточных вод является актуальным с точки зрения обеспечения высокой плотности биомассы и предотвращения вымывания клеток, механической прочности биопленки и генетической стабильности микроорганизмов, высокой степени устойчивости к токсикантам в составе сточных вод. Следует отметить, что воздействие различных негативных факторов окружающей среды также стимулирует рост и увеличивает массивность бактериальной биопленки.

Степень разработанности темы. В настоящее время особый интерес представляет исследование механизмов процесса фосфатаккумуляции и биологической дефосфатации сточных вод микробным сообществом. Значительный вклад в изучение видового разнообразия фосфатаккумулялирующих микроорганизмов и их метаболических путей внутриклеточного накопления фосфора, исследование процессов удаления фосфора из сточных вод внесли российские и зарубежные ученые – Т.В. Кулаковская, И.С. Кулаев, А.В. Смирнов, Н.В. Пименов, А.Г. Дорофеев, Y. Zhang, T. Mino, A. Oehmen, и другие.

Целью работы являлась интенсификация процессов очистки сточных вод путем создания условий для развития фосфатаккумулялирующих микроорганизмов в составе микробных сообществ активного ила и биопленки.

Задачи исследования:

1. Проанализировать особенности формирования микробного сообщества активного ила в условиях культивирования фосфатаккумулялирующих микроорганизмов в его составе в отъемно-доливном реакторе с целью глубокого удаления фосфора из среды культивирования. Установить взаимосвязь между структурой микробного сообщества и эффективностью биологической очистки сточных вод от фосфора.

2. Исследовать способность к образованию биопленки микробных культур *Alcaligenes faecalis* 2, *Acinetobacter guillouiae* 11h, *Rhodococcus erythropolis* ИЛБИО, *Achromobacter pulmonis* ПНОС, *Paenibacillus odorifer*, *Bacillus subtilis*,

Micrococcus yunnanensis и *Bacillus proteolyticus*, участвующих в очистке коммунально-бытовых и промышленных сточных вод.

3. Проанализировать влияние физико-химических факторов среды (температуры, pH, содержания синтетического ПАВ в качестве поллютанта) на структурную устойчивость моно- и бинарных бактериальных биопленок и ферментативную активность микроорганизмов в их составе.

4. Провести сравнительный анализ эффективности очистки сточных вод от фосфат-ионов в процессе культивирования активного ила и биопленки на его основе с созданием условий для развития фосфатаккумулирующих микроорганизмов в их составе.

5. Оценить влияние биоаугментации микробного сообщества биопленки с интродукцией фосфатаккумулирующей культуры *Alcaligenes faecalis* 2 на эффективность удаления фосфора и азота в биофильтре.

6. Разработать и обосновать техническое предложение по внедрению биофильтрационной установки для очистки сточных вод с глубоким удалением фосфора.

Научная новизна.

Установлены закономерности сукцессии микробного сообщества в циклическом реакторе при реализации процесса глубокого удаления фосфора и определены доминирующие функциональные группы фосфатаккумулирующих микроорганизмов. Идентифицирована культура, отнесенная к роду *Azotobacter*, определены её доля в сообществе (до 24 %), а также высокое содержание внутриклеточного фосфора (до 12 %) в абсолютно сухой биомассе.

Доказано, что активное формирование биопленок в ответ на стрессирующее воздействие отдельных внешних факторов среды характерно в большей степени для бинарных культур по сравнению с монокультурами, а именно:

- массивность биопленки бинарной культуры *Bacillus subtilis* и *Achromobacter pulmonis* ПНОС в кислых (pH 5,0) и щелочных условиях среды (pH 10,0) выше в среднем на 46 % и 45 %, соответственно;

- массивность биопленки бинарной культуры *Alcaligenes faecalis* 2 и *Bacillus subtilis* в присутствии додецилсульфата натрия в диапазоне концентраций от 5 до 10 мг/дм³, в среднем, на 22 % выше.

Установлено, что пусковой период в условиях циклического (отъемно-доливного) режима биофильтрации сточной воды по сравнению с использованием активного ила сокращается вдвое за счет интенсивного накопления массы биопленки и устойчивого структурного формирования функциональных микробных групп в её составе. По сравнению с активным илом процесс удаления из модельного раствора сточных вод фосфатов и аммонийного азота в системе с биопленкой отличается большей эффективностью на 20-25 % на 30-35 %, соответственно.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы состоит в обобщении представлений о механизмах фосфатаккумуляции микроорганизмами активного ила и биопленки,

формировании подходов к разработке перспективных технологий в области глубокого удаления соединений фосфора из сточных вод.

Разработана методика диагностики фосфатаккумулялирующей способности активного ила в технологии очистки сточных вод в рамках договора с ФСИ 17133ГУ/2021 от 15.12.2021 г., которую можно применять на очистных сооружениях для оперативной оценки влияния физико-химических факторов среды на активный ил в процессе удаления фосфат-ионов из сточных вод.

Разработана технологическая схема биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод для очистных сооружений малой производительности (400,0 м³/сут) с попеременным поступлением сточной воды на последовательно работающие биофильтры.

Получен акт о практическом использовании результатов диссертационной работы от МУП «Водоканал» г. Казани по интенсификации биофильтрационной очистки с глубоким удалением фосфатов из сточных вод жилого массива «Крутушка» (исх. № 8224/16-21 от 24.04.2026 г.).

Определено, что срок окупаемости затрат на строительство и эксплуатацию сооружений составит около 5 лет, а общее снижение платы за сверхнормативный сброс соединений азота и фосфора в водные объекты составит более 1 млн. 750 тыс. руб. в год.

Методология и методы исследований.

В работе использованы методы анализа биопленкообразующей способности микроорганизмов и оценки метаболической активности бактериальных культур в составе биопленки. Исследование процесса фосфатаккумуляции и дефосфатации сточных вод проведено с использованием лабораторного реактора последовательно-периодического действия с суспензионной биомассой в условиях смены анаэробных и аэробных условий, а также аэрируемого биофильтра, функционирующего в условиях циклического отъемно-доливного процесса очистки модельного раствора сточной воды. Оценка фосфатаккумулялирующей способности микроорганизмов активного ила проводилась с помощью электронно-микроскопических исследований, рентгеновского микроанализа с распределением химических элементов в микробных клетках. Динамика содержания соединений фосфора, азота, а также значений ХПК, БПК в модельных растворах сточных вод в процессе культивирования активного ила в лабораторных биореакторах анализировалось с помощью стандартных спектрометрических и титриметрических методик. Таксономический состав микробиоценоза и идентификацию чистых бактериальных культур осуществляли профилированием по гену 16S рРНК.

Положения, выносимые на защиту:

1. Сукцессия микробного сообщества активного ила в процессе глубокого удаления фосфора в реакторе последовательно-периодического действия проявляется сменой доминирующих групп микроорганизмов в соответствии со стадиями фосфатаккумуляции и дефосфатации. Развитие сообщества, включающего культуру фосфатаккумулялирующих микроорганизмов рода *Azonexus* в количестве 24 %, обеспечивает эффективность дефосфатации среды

на 51 % и сопровождается значительным увеличением содержания внутриклеточного фосфора до 12 % от сухой массы клеток.

2. Выраженной способностью к образованию биопленки обладают большинство исследованных штаммов бактерий. Перспективными штаммами для формирования развитой устойчивой биопленки в составе бинарной культуры являются *Alcaligenes faecalis* 2 и *Bacillus subtilis*.

3. При воздействии физико-химических факторов среды в широком диапазоне значений (рН от 5,0 до 10,0; температуры от 10 до 30 °С, додецилсульфата натрия в диапазоне концентраций от 5 до 10 мг/дм³) микробные биоплёнки сохраняют структурную устойчивость и ферментативную активность; при этом все исследованные бинарные биоплёнки бактериальных культур характеризуются более высокой устойчивостью и активностью по сравнению с монокультурами.

4. Имобилизованное микробное сообщество активного ила в биофильтре обеспечивает интенсификацию процессов очистки сточных вод с глубоким удалением фосфора. Эффективность удаления фосфат-ионов из среды в биофильтре составила, в среднем, 95 % по сравнению с суспендированной биомассой (78 %), что реализовано в техническом решении по интенсификации процесса биофильтрации сточных вод.

Степень достоверности полученных результатов. Достоверность исследований обеспечивается воспроизводимостью экспериментальных результатов, использованием комплекса стандартных методик их аналитического контроля и анализа, а также использованием современных методов и оборудования для проведения экспериментальных работ. Обработка результатов экспериментов проводилась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2019 с оценкой достоверности по критерию Стьюдента-Фишера. Использовали параметрический t-критерий Стьюдента. Различие считали достоверным при уровне значимости $p < 0,05$.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на XIII Международной конференции ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2022» (г. Пермь), Всероссийском форуме молодых исследователей «ХимБиоSeasons–2023» (г. Кемерово), XVIII Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии» (г. Казань, 2023 г.), Международном экологическом конгрессе «Экология и безопасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов ELPIT» (г.г. Самара-Тольятти, 2023, 2025 г.г.), Пушкинской школе-конференции молодых ученых с международным участием «Биология - наука XXI века» (г. Пушкино на Оке), XIV Молодежной конференции «Актуальные аспекты современной микробиологии» (г. Москва, 2024 г.), Международной научной конференции «Актуальные аспекты и перспективы развития современной биотехнологии» (г. Белгород, 2026).

Публикации. Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, были опубликованы в 14 работах, из них 2 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России

по специальности, 1 статья в научном журнале, индексируемом в международной базе данных и системе цитирования Scopus, 11 публикаций в сборниках Международных и Всероссийских научных конференциях.

Финансирование

Диссертационное исследование выполнялось при поддержке следующих грантов и программ выполнения научно-исследовательских работ:

- фонда содействия инновациям УМНИК по теме «Разработка уникальной методики диагностики фосфатаккумулялирующей способности активного ила в технологии очистки сточных вод, договор №17133ГУ/2021от 15.12.2021» (2022-2024 г.г.);

- стипендиальной программы «Алгарыш» Правительства и Минобрнауки Республики Татарстан для выполнения исследований в Институте экологии и генетики микроорганизмов ФИЦ УрО РАН (г. Пермь) по теме «Агрегированные формы микроорганизмов (биопленки, микробные гранулы) в процессах биологической дефосфатации сточных вод» (2022 г.) и в ФИЦ биотехнологии РАН (г. Москва) по теме «Фосфатаккумулялирующие и азоттрансформирующие микроорганизмы в составе микробного сообщества и биопленки в технологиях биологической очистки сточных вод» (2024 г.).

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 биокомпостирования 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, 6 глав, заключения, списка литературы. Работа изложена на 186 страницах машинописного текста, содержит 37 рисунков, 21 таблица, 2 приложения. Библиографический список включает 269 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 на всех этапах исследования, обработке и обсуждении результатов исследований, формулировании выводов, написании публикаций по теме диссертации и представлении результатов диссертационного исследования на конференциях и конкурсах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность исследования процессов биологической очистки сточных вод от фосфат-ионов в условиях развития фосфатаккумулялирующих микроорганизмов в сообществах активного ила и

био пленки. Показано, что применение современных биотехнологических методов дефосфатации сточных вод направлено на эффективное снижение концентрации биогенных элементов, поступающих в водные объекты и предотвращение развития процесса эвтрофикации. Определены цель и задачи диссертационной работы, объекты исследования, сформулирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, отражены методология и методы исследований, представлены основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора.

В первой главе представлены исследования отечественной и зарубежной литературы, посвященные современным методам удаления фосфатов из сточных вод. Рассмотрены физико-химические и биологические способы дефосфатации, механизмы накопления фосфора фосфатаккумуляирующими микроорганизмами (р.р. *Thiotrix*, *Ca. Accumulibacter*, *Ca. Competibacter* и другие), особенности функционирования микробных сообществ активного ила, а также процессы образования и использования бактериальных био пленок в технологиях очистки сточных вод. Обобщены современные инженерные решения по применению иммобилизованной биомассы в технологиях очистки сточных вод. На основании проведенного анализа обоснована перспективность использования био пленочных технологий и биоаугментации для повышения эффективности удаления фосфатов из сточных вод.

Во второй главе описаны объекты и методы исследований. Объектами исследований являлись штаммы микроорганизмов из музейной коллекции лаборатории молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов (г. Пермь); бактериальные культуры, выделенные из активного ила очистных сооружений г. Зеленодольска (Республика Татарстан); образцы активного ила очистных сооружений г. Иннополис (Республика Татарстан).

Представлены методики, описывающие условия культивирования микробных био пленок, оценки массивности био пленки и ферментативной активности микроорганизмов в составе био пленки; аналитические методы определения ХПК, соединений фосфора и азота в модельных растворах сточных вод; метод рентгеновского микроанализа для определения элементного состава образцов активного ила; молекулярно-генетический анализ для исследования таксономического состава микробного сообщества.

Описаны схемы проведения экспериментов по культивированию микробных био пленок, оценке воздействия внешних факторов среды на био пленки моно- и бинарных бактериальных культур; исследование дефосфатации сточных вод обогащённым фосфатаккумуляирующими микроорганизмами активным илом в реакторе последовательно-периодического действия; анализ процесса биофильтрации и дефосфатации сточных вод иммобилизованной биомассой активного ила с последующей биоаугментацией микроорганизмов в состав био пленки.

В третьей главе представлены результаты культивирования микробного сообщества активного ила в биореакторе последовательно-периодического действия.

Оценка фосфатаккумулирующей способности микроорганизмов активного ила. Процесс формирования фосфатаккумулирующего микробного

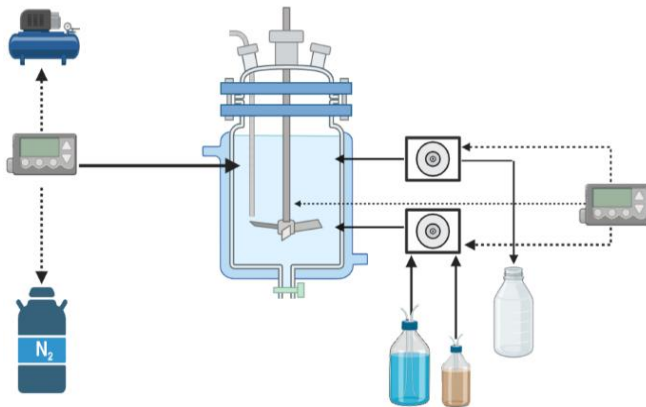


Рисунок 1 – Принципиальная схема биореактора последовательно-периодического действия

сообщества исследован в лабораторном реакторе последовательно-периодического действия (SBR) объемом 2 дм³ (рисунок 1). В качестве инокулята использовали активный ил городских очистных сооружений г. Иннополис с исходной концентрацией биомассы 3,7 г АСБ/дм³. Культивирование активного ила проводили при температуре 20±0,2 °С в циклическом анаэробно-аэробном

режиме в течение 6 ч (анаэробная фаза – 2 ч 55 мин, аэробная фаза – 3 ч 05 мин), с последующим отстаиванием и заменой части очищенной воды на свежую питательную среду.

Установлено, что в течение первых двух недель протекала адаптация микроорганизмов к условиям культивирования, сопровождавшаяся увеличением концентрации биомассы активного ила с 0,9 до 1,48 г АСБ/дм³.

На 13-е сутки культивирования некоторое количество ацетата усваивается к концу аэробной стадии эксперимента и отмечается уменьшение фосфора, в среднем, до 21,6 мг Р-РО₄/дм³ (рисунок 2а). По истечении 22-х суток культивирования активного ила эффективность удаления фосфора составила в среднем 41 % (рисунок 2б). На 57-е сутки культивирования активного ила общая степень поглощения фосфора в период аэробной фазы составила, в среднем, 51 % по сравнению с начальным значением (25,0 мг Р-РО₄/дм³) (рисунок 2в). В условиях низкого содержания растворенного кислорода в течение 110 минут осуществляется потребление ацетата и высвобождение фосфора ФАО, и его концентрация достигает 36,5 мг Р-РО₄/дм³. В течение следующего месяца (76 суток культивирования) наблюдалось постепенное снижение эффективности дефосфатации до 27,2-31,4 %, сопровождавшееся уменьшением интенсивности поглощения фосфора специализированным микробным сообществом (рисунок 2г).

Таким образом, эффективное функционирование фосфатаккумулирующего сообщества относится к периоду с 22 по 57 сутки культивирования активного ила, соответствующего максимальной активности микроорганизмов, осуществляющих биологическое удаление фосфатов из сточных вод.

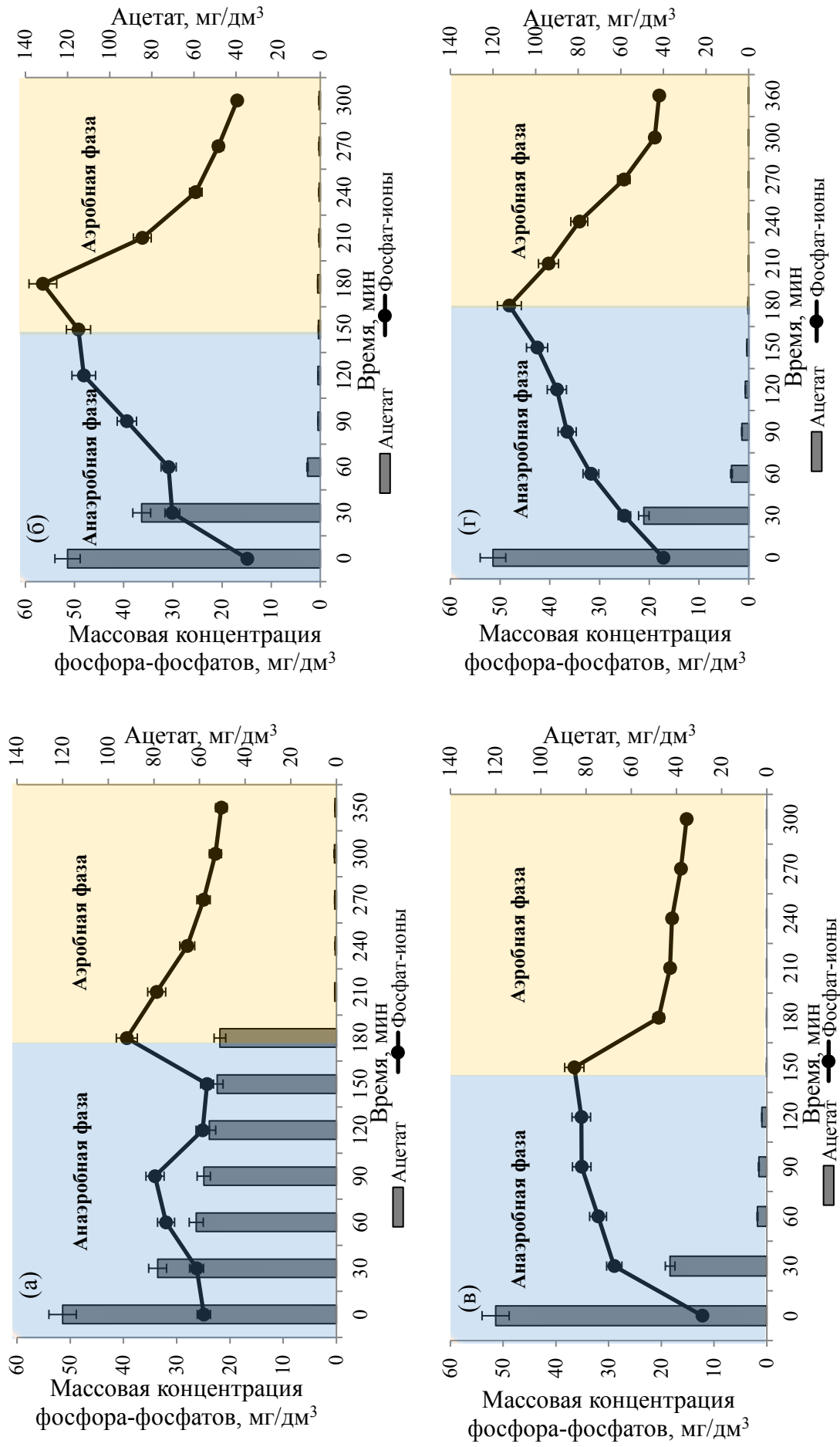
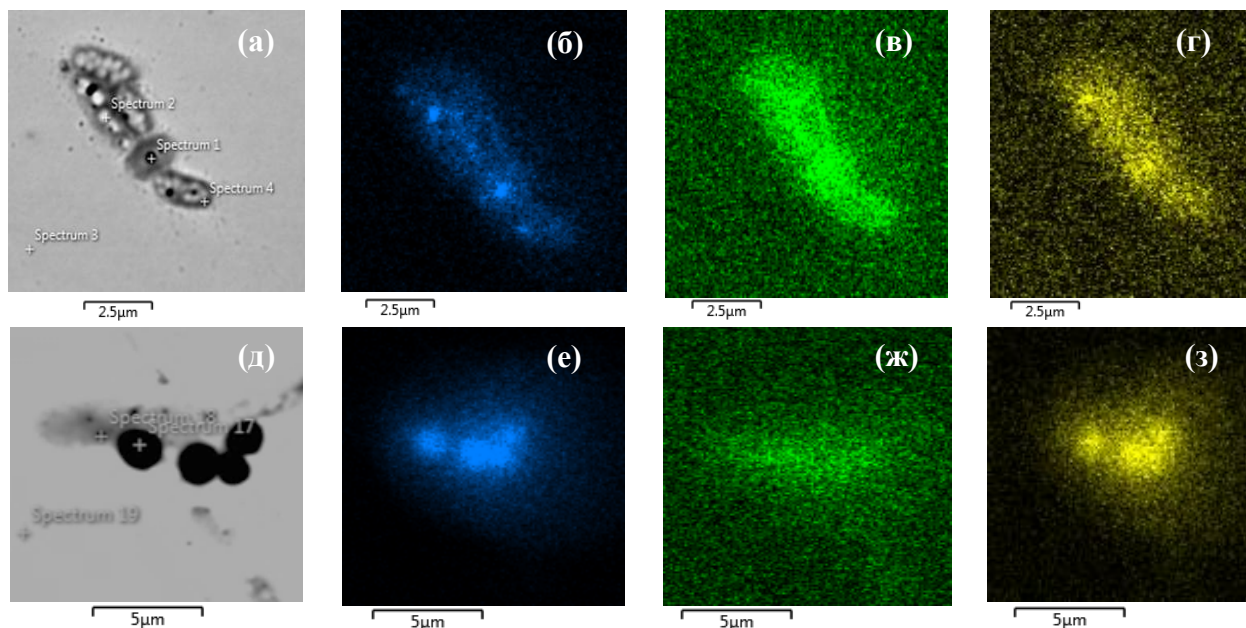


Рисунок 2 – Динамика содержания ацетата и соединений фосфора при культивировании активного ила в реакторе SBR в режиме 6-ти часового аэробного/анаэробного цикла (а – 13 сутки, б – 22 сутки, в – 57 сутки, г – 76 сутки культивирования)

Электронно-микроскопический анализ образцов активного ила в процессе культивирования в SBR реакторе.

На различных этапах культивирования проводилась сканирующая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ образцов активного ила. Установлено, что на 7-е сутки культивирования в микробном сообществе преобладали палочковидные клетки, содержащие единичные электронно-плотные включения, а к 25-м суткам возростала доля кокковидных форм микроорганизмов (рисунок 3а, д).

7 сутки культивирования



25 сутки культивирования

Рисунок 3 – Элементный анализ образцов активного ила методом картирования на 7 и 25 сутки культивирования. Синим, зеленым и желтым цветами изображено распределение фосфора, азота и магния, соответственно: электронные фотографии активного ила (а, д); распределение фосфора (б, е); распределение азота (в, ж); распределение магния (г, з)

Для определения внутриклеточного распределения фосфора, азота, магния, калия и кальция использовали метод картирования химических элементов (рисунок 4).

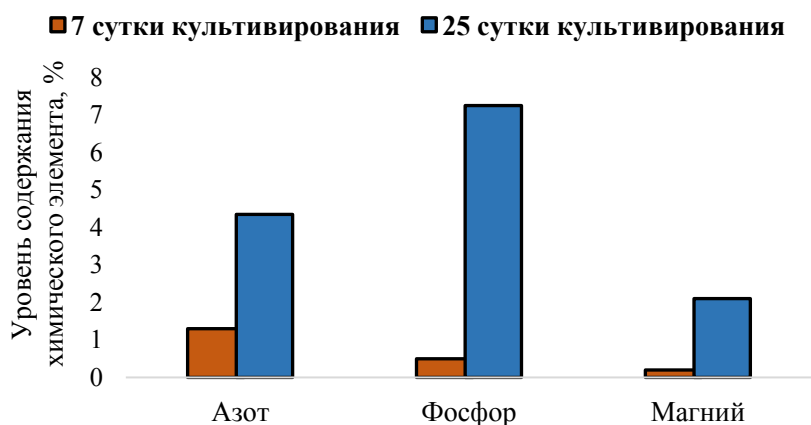
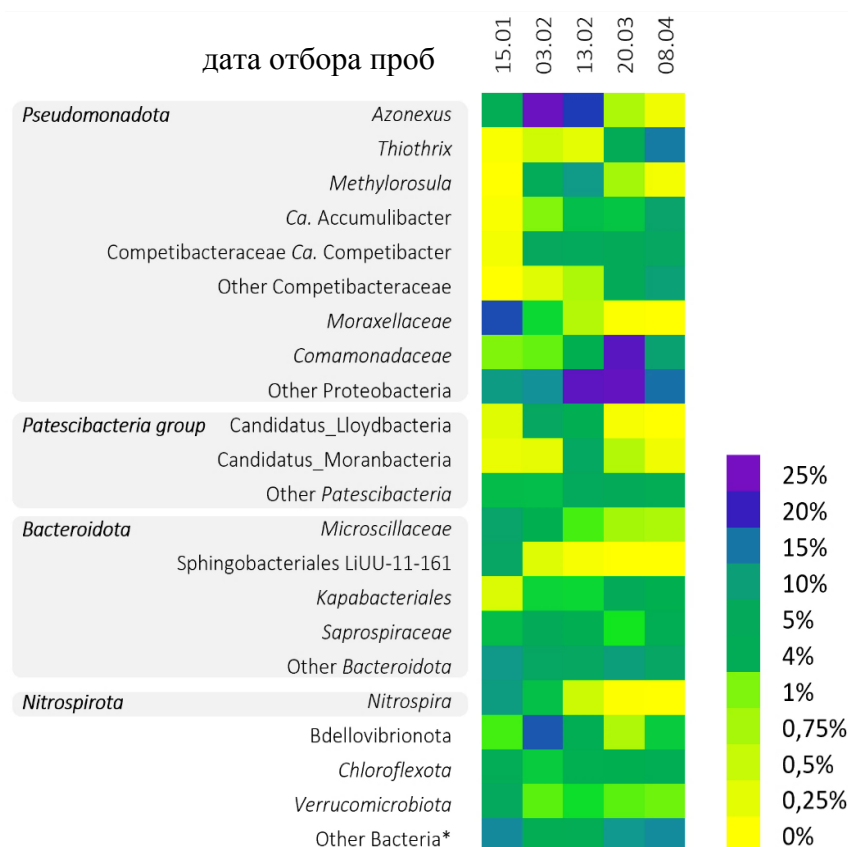


Рисунок 4 – Содержание химических элементов в точках анализа, выраженное в процентах от общего содержания элементов

На 25-е сутки культивирования содержание внутриклеточного фосфора увеличилось в 14 раз, магния – 10,5 раз, азота – 3,3 раза, что может свидетельствовать об интенсификации процесса накопления полифосфатов в клетках микроорганизмов.

Таксономический анализ микробного сообщества. На рисунке 5 представлен анализ таксономической структуры микробного сообщества активного ила в процессе культивирования в реакторе SBR, полученного методом высокопроизводительного секвенирования переменных участков гена 16S рРНК.



Отбор проб активного ила из биореактора для анализа микробного разнообразия

осуществляли на 0, 19, 29, 64 и 83 сутки культивирования. В начальный период доминировали представители двух филумов:

Pseudomonadota (33,14 %) и *Bacteroidota* (28,62 %). В течение первого периода (15-20 суток) формировалось сообщество

с доминированием представителя семейства *Azonexaceae*, доля которого на 19 суток достигла 23,80 %.

Рисунок 5 – Тепловая карта динамики разнообразия микробного сообщества в процессе культивирования активного ила

В течение второго периода (20-64 суток) продолжали доминировать микроорганизмы р. *Azonexus* (18-23 %). На данной стадии удаление фосфора достигло максимума, составив 36-51 % (рисунок 2). Биомасса характеризовалась высоким содержанием золы (33 %), существенно превышающим содержание фосфора в «обычной» биомассе микроорганизмов активного ила (2-3 %). На третьем этапе (64-83 суток) произошло резкое изменение состава доминантов микробного сообщества, и доля *Azonexus* уменьшилась (менее 1 %), что сопровождалось снижением эффективности удаления фосфора (27-30 %).

Набор генов, идентифицированных в собранном геноме *Azonexus*, указывает на потенциальную способность данного организма к накоплению фосфатов (высокоаффинной системы транспорта фосфатов *pst* (*pstSCAB*), так и

низкоаффинный транспортер *pit* синтеза (*prk1*, *prk2*)) и расщепления (*prx*, *par*) полифосфатов.

Установлено, что при запуске процесса глубокого биологического удаления фосфора (EBPR) использование активного ила, не работающего по технологии EBPR, приводит к развитию в течение 2-3 недель фосфат-аккумулирующего микробного сообщества. Однако эффективность процесса дефосфатации оставалась недостаточно высокой (до 50 %), что требует проведения дальнейших исследований, в которых использовалась бактериальная биопленка.

В четвертой главе проводился анализ биопленкообразующей способности микроорганизмов активного ила.

Оценка биопленкообразующей способности монокультур активного ила. В процессе культивирования микроорганизмов на среде LB и синтетической питательной среде показано, что наиболее высокой способностью к формированию биопленок обладают *Alcaligenes faecalis* 2, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus odorifer* и *Achromobacter pulmonis* ПНОС, где значения ОП₅₄₀ находились в интервале от 0,2 до 0,4 опт.ед. и были отобраны для дальнейших исследований.

Установлено, что при увеличении продолжительности периодического культивирования до 144 ч наблюдается накопление биомассы в культуральной жидкости, что сопровождается интенсивным развитием микробной биопленки для всех бактериальных культур. Увеличение массивности биопленок отмечено для *A. faecalis* 2, *B. subtilis*, *P. odorifer* и *A. pulmonis* ПНОС, у которых оптическая плотность возрастала, в среднем, на 20 %, 63 %, 77 %, 50 %, соответственно.

Клетки в составе биопленок проявляли высокую метаболическую активность, Фл./ОП₅₄₀ (соотношение условных единиц флуоресценции красителя PrestoBlue HS Viability Reagent к биомассе биопленки (ОП₅₄₀): *A. faecalis* 2 – 628±31, *A. pulmonis* ПНОС – 3609±180, *B. subtilis* – 1227±61 и *P. odorifer* – 1120±56, что свидетельствует о сохранении высокой функциональной активности микроорганизмов после длительного культивирования.

Анализ влияния физико-химических факторов среды на устойчивость биопленки монокультур активного ила. Исследовано влияние температуры, активной реакции среды и концентрации раствора додецилсульфата натрия (SDS) на устойчивость биопленок монокультур *A. faecalis* 2, *B. subtilis*, *A. pulmonis* ПНОС и *P. odorifer*.

Бактериальные биопленки *A. faecalis* 2, *B. subtilis*, *A. pulmonis* ПНОС и *P. odorifer* сохраняют устойчивость при воздействии низких температурных значениях среды (10 °C). Однако у микроорганизмов *A. faecalis* 2 в составе биопленки при 10 °C наблюдается увеличение метаболической активности, в среднем, на 65 % по сравнению с контрольными образцами микробной биопленки (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты измерения оптической плотности массивности биопленки при воздействии физико-химических факторов среды

Контролируемые параметры	Показатели							
	Массивность биопленки				Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, Фл./ОП540			
	<i>A. faecalis</i> 2	<i>A. pulmonis</i> ПНОС	<i>P. odorifer</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>A. faecalis</i> 2	<i>A. pulmonis</i> ПНОС	<i>P. odorifer</i>	<i>B. subtilis</i>
T, °C								
10	0,7±0,1	0,7±0,2	0,72±0,10	0,75±0,10	840±42	920±46	642±32	768±38
30	0,5±0,1	0,4±0,2	0,77±0,09	0,60±0,03	286±14	1193±59	773±38	991±49
50	0,002±0,05	0,11±0,07	0,39±0,13	0,33±0,11	58±3	81±4	202±10	254±12
pH								
5,0	1,0±0,1	0,7±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	343±17	196±10	197±10	257±13
7,0	0,8±0,1	0,72±0,08	1,26±0,09	1,3±0,1	263±13	254±12	187±92	357±17
10,0	0,82±0,07	0,7±0,1	1,20±0,09	1,4±0,1	277±14	347±17	255±12	278±14
SDS, мг/дм ³								
5	0,7±0,1	0,32±0,09	0,73±0,09	0,73±0,07	216±10	51±2	307±15	306±15
10	0,68±0,09	0,52±0,09	0,6±0,1	0,62±0,10	180±9	78±3	30±1	144±7
50	0,09±0,06	0,57±0,08	0,4±0,07	0,39±0,08	36±1	23±1	52±3	8,8±0,4

При изменении pH установлено, что биопленки всех исследованных культур сохраняли устойчивость в диапазоне pH 5,0-7,0, тогда как при pH 10,0 их массивность снижалась в среднем на 27 %, несмотря на увеличение ферментативной активности клеток.

Сохраняется устойчивость биопленок *A. faecalis* 2, *B. subtilis*, *A. pulmonis* ПНОС и *P. odorifer* при воздействии раствора SDS в концентрациях 5,0 и 10,0 мг/дм³. При максимальной концентрации раствора SDS (50 мг/дм³) наблюдалось снижение массивности бактериальной биопленки в среднем до 94 % относительно контроля.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что высокая плотность клеток и стрессоустойчивость микроорганизмов в составе биопленки обеспечивают их устойчивость к физико-химическим факторам среды, а также гидрофобным и токсичным соединениям в среде.

Оценка биопленкообразующей способности бинарных культур активного ила. Установлено, что высокой биопленкообразующей способностью обладает бинарная культура *A. faecalis* 2 + *B. subtilis*, у которой величина массивности биопленки превышало в 2 раза, чем для бинарной биопленки *B. subtilis* + *R. erythropolis* 11-2, а для комбинаций *B. subtilis* + *A. pulmonis* ПНОС, *P. odorifer* + *A. pulmonis* ПНОС – в 4 раза.

Анализ влияния физико-химических факторов среды на устойчивость биопленки бинарных бактериальных культур активного ила. В таблице 2 показаны результаты исследования влияния температуры, pH среды и раствора додецилсульфата натрия на устойчивость и метаболическую активность биопленок бинарных бактериальных культур.

Таблица 2 – Результаты измерения оптической плотности массивности биопленки при воздействии физико-химических факторов среды

Контролируемые параметры	Показатели							
	Массивность биопленки				Метаболическая активность микроорганизмов в составе биопленки, ФЛ./ОП540			
	<i>A. faecalis</i> 2 + <i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i> + <i>R. erythropolis</i>	<i>B. subtilis</i> + <i>A. pulmonis</i> ПНОС	<i>P. odorifer</i> + <i>A. pulmonis</i> ПНОС	<i>A. faecalis</i> 2 + <i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i> + <i>R. erythropolis</i>	<i>B. subtilis</i> + <i>A. pulmonis</i> ПНОС	<i>P. odorifer</i> + <i>A. pulmonis</i> ПНОС
T, °C								
10	0,85±0,04	0,45±0,02	0,77±0,03	0,65±0,03	859±42	649±32	672±33	881±441
30	0,6±0,03	0,50±0,02	0,95±0,04	0,80±0,04	583±29	1468±73	1322±66	1076±53
50	0,07±0,01	0,39±0,01	0,42±0,02	0,38±0,01	49±2	493±21	81±4	794±39
pH								
5,0	1,28±0,06	1,34±0,06	1,37±0,06	1,11±0,05	186±9	140±7	159±7	84±4
7,0	1,09±0,05	1,16±0,05	1,09±0,05	1,18±0,05	141±7	175±8	186±9	246±12
10,0	1,0±0,05	1,12±0,05	1,1±0,05	0,86±0,04	227±11	221±11	229±11	566±28
SDS, мг/дм ³								
5	0,91±0,04	0,56±0,02	0,67±0,03	0,62±0,03	240±12	93±4	97±4	226±6
10	0,7±0,03	0,55±0,02	0,71±0,04	0,77±0,03	204±10	144±7	322±16	161±8
50	0,05±0,01	0,55±0,02	0,44±0,02	0,56±0,02	2±0,1	27±1	170±8	61±3

При снижении температуры до 10 °C массивность биопленки бинарной культуры *B. subtilis* и *A. pulmonis* ПНОС уменьшалась на 19 %, тогда как у соответствующих монокультур снижение составляло 33 % и 44 %, соответственно. При 50 °C уменьшение массивности бинарной биопленки (55 %) было менее выраженным по сравнению с монокультурами.

Все исследованные биопленки бинарных культур сохраняют устойчивость к изменению кислотности среды при pH 5,0 и 10,0. Наиболее выраженный эффект отмечен для бинарной культуры *B. subtilis* и *A. pulmonis* ПНОС, массивность биопленки которой при pH 5,0 и pH 10,0 превышала показатели соответствующих монокультур, в среднем, на 46 % и 45 %, соответственно.

При воздействии раствора SDS, устойчивостью характеризовалась бинарная культура *A. faecalis* 2 и *B. subtilis*. В диапазоне концентраций SDS 5,0-10,0 мг/дм³ массивность бинарной биопленки была выше, в среднем, на 22 %, по сравнению с соответствующими биопленками монокультур.

Полученные результаты свидетельствует о возможности организации процессов биопленкообразования и создания перспективных многокомпонентных агрегатов микробных клеток с целью использования в процессах биофильтрации сточных вод.

В пятой главе осуществлялось культивирование биопленки активного ила очистных сооружений г. Иннополис в аэрируемом биофильтре объемом 0,5 л, где в качестве носителя использовали керамзит.

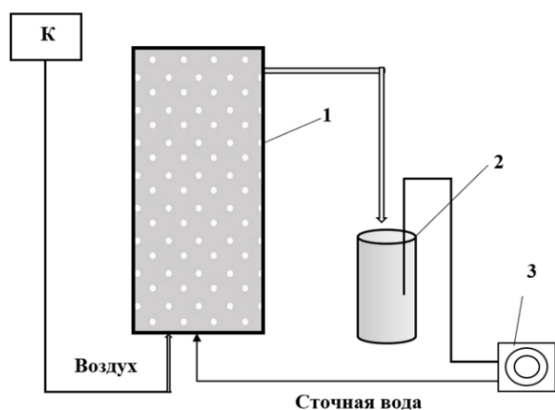


Рисунок 6 – Принципиальная схема работы биофильтра (1 – биофильтр с носителем, 2 – емкость для подачи модельного раствора сточной воды, 3 – перистальтический насос, К – компрессор для подачи воздуха)

Процесс проводили в циклическом отъемно-доливном режиме с ежесуточной заменой 30-40 % культуральной жидкости свежим модельным раствором сточной воды. Биопленку на поверхности носителя формировали в течение 3-х суток в режиме рецикла надиловой жидкости и модельного раствора сточной воды. Контролем являлась суспендированная биомасса активного ила, культивируемая в аналогичных условиях без носителя для микроорганизмов.

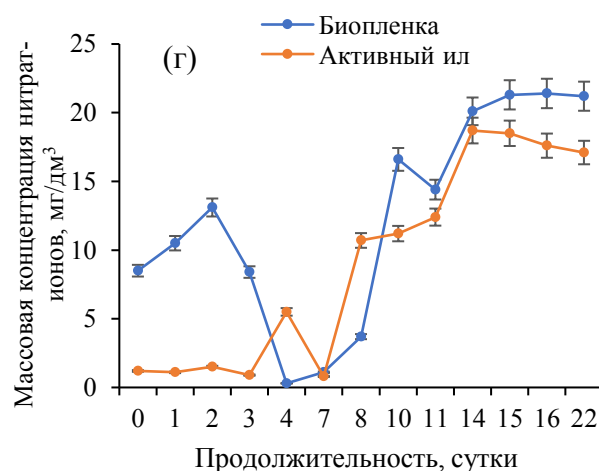
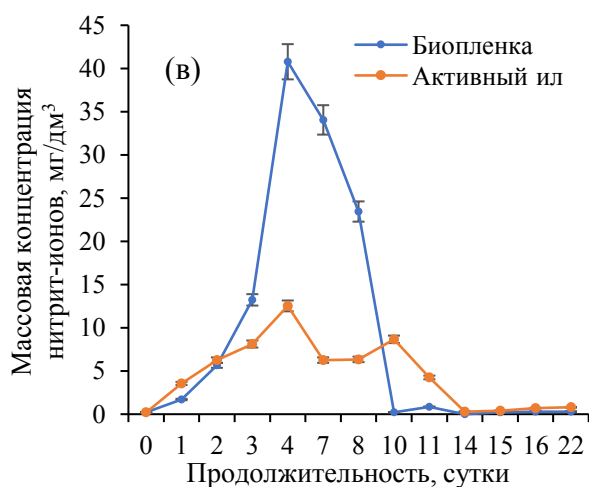
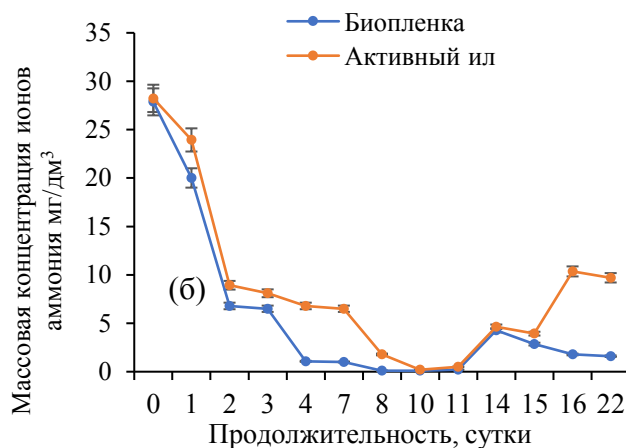
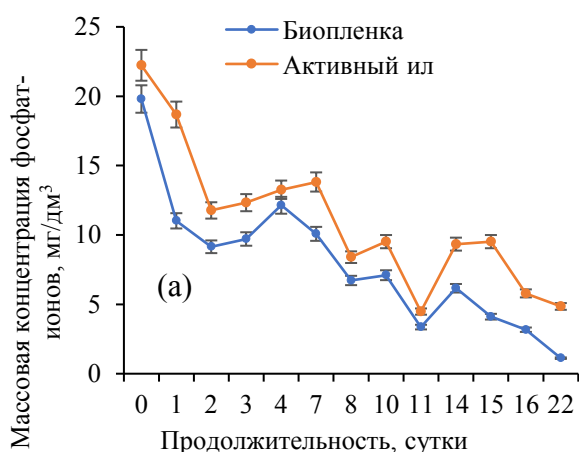


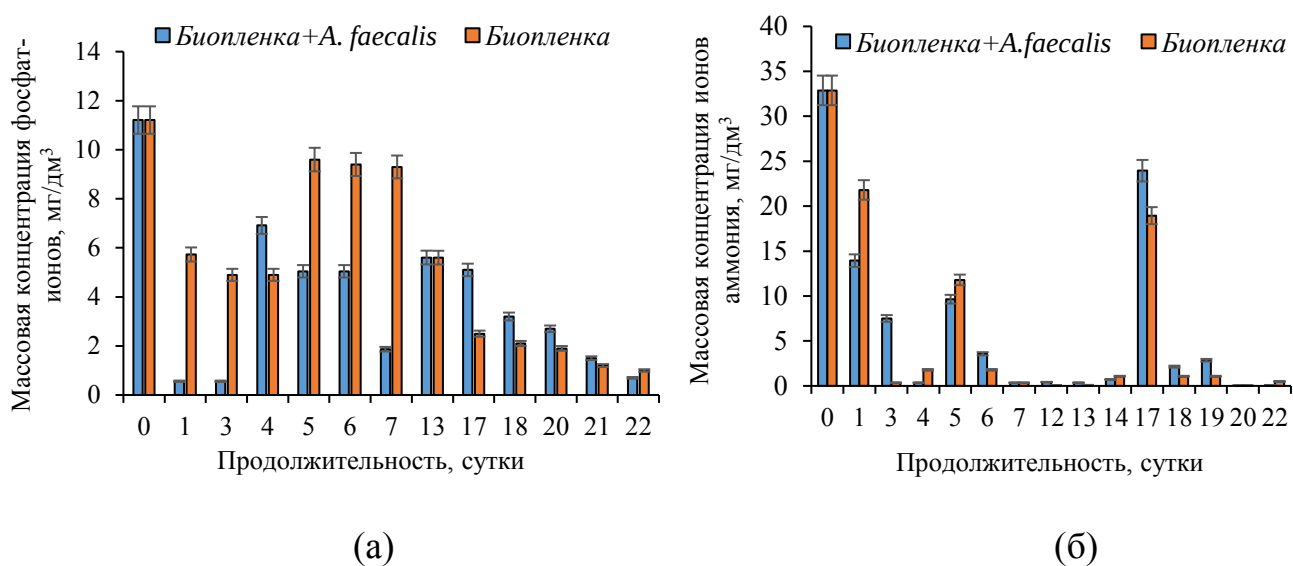
Рисунок 7 – Кинетика изменения массовой концентрации ионов фосфатов (а), аммония (б), нитритов (в), нитратов (г) в среде при отъемно-доливном режиме культивирования

По истечении первых суток процесса биопленка активного ила обеспечивает высокую скорость удаления биогенных элементов по сравнению с суспендированной биомассой (в 2,7 раза выше, чем в контрольной системе). Несмотря на последующее выравнивание значений средней скорости удаления фосфат-ионов на длительном интервале (0-22 сутки), биопленка демонстрирует высокую эффективность дефосфатации – 95 %, тогда как для суспендированной биомассы – 78 %.

Эффективность биофильтрационного удаления аммония достигла 92 %, что существенно превышало показатель системы с активным илом (65 %). Использование иммобилизованного микробного сообщества в биофильтре обеспечило сокращение продолжительности лаг-фазы процесса нитрификации вдвое по сравнению с суспендированным активным илом. При этом конечная концентрация нитрат-ионов в среде была выше на 20 %, по сравнению с суспендированной биомассой активного ила.

Таким образом, система с иммобилизованной биомассой активного ила демонстрирует высокую эффективность процесса удаления фосфатов, что в дальнейшем способствует интенсификации биологической дефосфатации сточных вод.

Интродукция фосфатаккумулирующих микроорганизмов в систему с иммобилизованной биомассой активного ила. Исследована возможность повышения эффективности биологической дефосфатации путем интродукции фосфатаккумулирующей культуры микроорганизмов *A. faecalis* 2 в сообщество иммобилизованной биомассы активного ила. Культивирование интродуцированного сообщества биопленки проводили в лабораторном биофильтре в течение 22-х суток с систематическим определением концентрации биогенных элементов (рисунок 8).



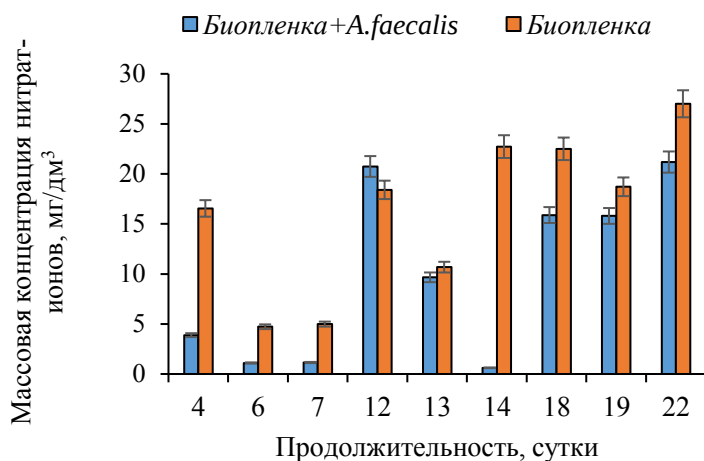


Рисунок 8 – Кинетика изменения массовой концентрации ионов фосфатов (а), аммония (б), нитратов (в) в среде при отъемно-доливном режиме культивирования

(в)

В начальный период эксперимента (0-7 сутки) концентрация фосфатов снижается в среднем на 95 % (рисунок 8а). Рассматриваемый процесс может быть связан с активностью *A. faecalis* 2 в составе биопленки. В системе с интродуцированной биопленкой на 22-ые сутки эксперимента содержание фосфатов в среде ниже в 1,4 раза, по сравнению с биопленкой без внесения микроорганизмов *A. faecalis* 2, что свидетельствует о стабилизации процесса биологической дефосфатации. Интродукция *A. faecalis* 2 в биофильтр не оказывала отрицательного влияния на процессы нитрификации (рисунок 8б, в). Эффективность удаления аммония в биоаугментированной системе и контрольной установке достигала 99 %, что характеризует сохранение высокой функциональной активности нитрифицирующего сообщества в составе биопленки.

Технологический расчет биофильтра для очистки сточных вод.

Сформулировано техническое предложение для биологических очистных сооружений малой производительности (400 м³/сут) с реализацией двухсекционной системы биофильтрации сточных вод и подобраны следующие параметры (таблица 3).

Таблица 3 – Технические характеристики биофильтра

Параметр	Типовой биофильтр	Проектный биофильтр (один из двух в схеме)
Расход, м³/сут	400	400
Объем биофильтра, м³	30-500	83,0
Высота биофильтра, м	2-6	2,9
Диаметр, м	3-20	6,0
Гидравлическая нагрузка, м³/(м² · сут)	5-15	14,2

Технологическая схема биологической очистки сточных вод с использованием биофильтров. По результатам расчета биофильтра разработана принципиальная технологическая схема (рисунок 9).

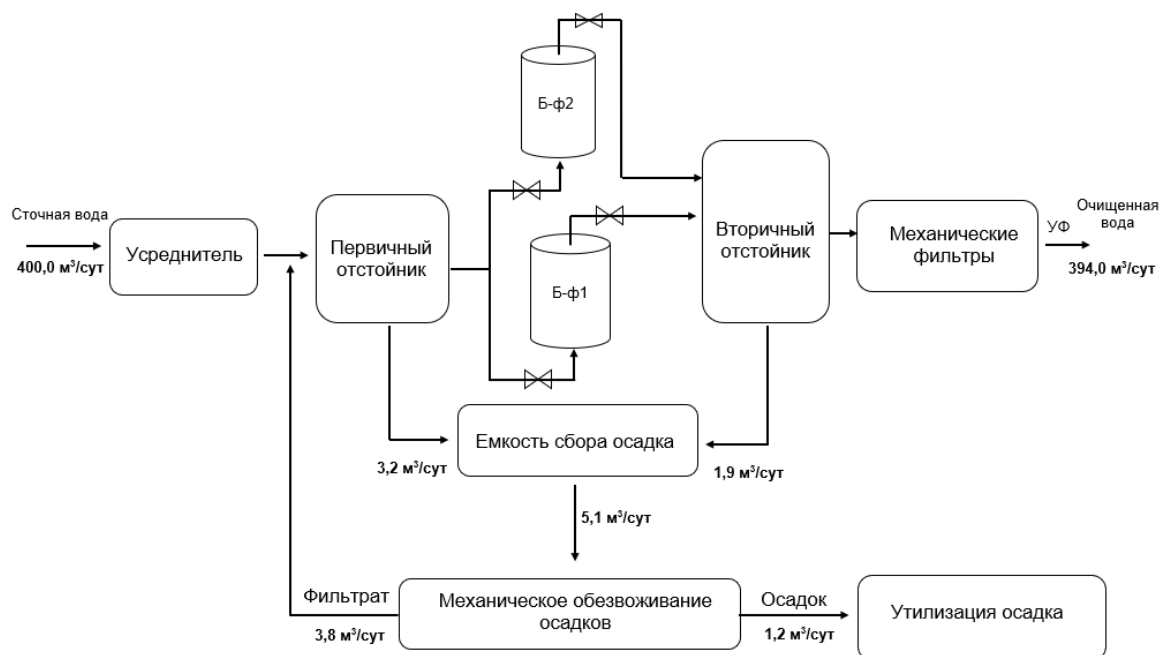


Рисунок 9 – Принципиальная схема очистки сточных вод для очистных сооружений с $Q = 400 \text{ м}^3/\text{сут}$

Биологическая очистка осуществляется в двух биофильтрах рабочим объемом каждого 83 м^3 и пребыванием сточной воды в течение 5 ч. Работа биофильтров организована попеременно: в период работы одного биофильтра второй находится на стадии заполнения или удаления очищенной воды. Для выравнивания расхода, состава сточных вод и буферной емкости предусмотрен усреднитель. После биологической очистки сточная вода направляется во вторичный отстойник и на механические фильтры, а образующиеся первичный осадок и избыточный активный ил поступают на обезвоживание с последующей утилизацией.

В шестой главе проведена оценка внедрения разработанной биофильтрационной технологии очистки коммунально-бытовых сточных вод ($Q = 400 \text{ м}^3/\text{сут}$). Общая стоимость основного технологического оборудования составила 7,9 млн руб., годовые амортизационные отчисления – 792,6 тыс. руб., годовой фонд оплаты труда обслуживающего персонала – 2,5 млн руб. Внедрение разработанной технологии обеспечивает снижение платы за сверхнормативный сброс азота и фосфора более чем на 1,75 млн руб. в год. Срок окупаемости проектного решения составляет около 5 лет. Полученные результаты подтверждают экологическую и экономическую эффективность применения биофильтров с иммобилизованной биомассой активного ила для очистки коммунально-бытовых сточных вод.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлено, что сукцессия микробного сообщества активного ила в процессе глубокого удаления фосфора в биореакторе последовательно-периодического действия (SBR – Sequencing Batch Reactor), последовательно реализующего анаэробную и аэробную стадии процесса, проявляется сменой доминирующих групп фосфатаккумулирующих микроорганизмов: р. *Thiotrix*, *Ca. Accumulibacter*, *Ca. Competibacter*. В составе сообщества идентифицирована культура рода *Azonexus*, способная накапливать внутриклеточный фосфор до 12 % от сухой массы клеток и доминирующая в процессе дефосфатации среды с эффективностью до 51 %.

2. Показано, что способностью к образованию биопленки обладают большинство исследованных штаммов бактерий. Установлено, что бинарная культура *Alcaligenes faecalis* 2 и *Bacillus subtilis* обладает наибольшей биоплёнкообразующей способностью (ОП540 = 0,6), а массивность образцов биопленки, сформированной на основе указанных культур, в 2-3 раза больше по сравнению с другими образцами биопленок.

3. Установлено, что под воздействием физико-химических факторов среды в широком диапазоне значений (рН от 5,0 до 10,0; температуры от 10 до 30°C, присутствия додецилсульфата натрия в диапазоне концентраций от 5 до 10 мг/дм³), микробные биоплёнки исследованных бактериальных культур активно формируют структуру и сохраняют устойчивость, а бактерии в их составе отличаются высокой ферментативной активностью (в диапазоне от 550 до 1400 Фл./ОП540). При этом исследованные бинарные биоплёнки отличаются большей массивностью, в среднем, на 20-40 % по сравнению с монокультурами.

4. Достигнута высокая эффективность удаления фосфат-ионов и ионов аммония в системе с биоплёнкой, которая составила, в среднем, 95 % и 92 %, соответственно, в сравнении с эффективностью дефосфатации и биоокисления аммония микроорганизмами активного ила (78 % и 65 %, соответственно).

5. Интродукция фосфатаккумулирующей культуры *Alcaligenes faecalis* 2 в микробное сообщество биопленки способствовала стабилизации процесса биологической дефосфатации среды. Эффективность удаления фосфат-ионов и ионов аммония с использованием биопленки с интродуцированной культурой составила, в среднем, 91-93 % и до 99 %, соответственно.

6. Предложено техническое решение процесса очистки коммунально-бытовых сточных вод в сооружениях малой производительности (400,0 м³/сут) на базе двух биофильтров с глубоким удалением фосфора и азота. Разработанное решение отражено в акте об использовании результатов МУП «Водоканал» г. Казани по интенсификации биофильтрационной очистки с глубоким удалением фосфатов из сточных вод жилого массива «Крутушка».

7. Установлено, что срок окупаемости затрат на строительство и эксплуатацию сооружений составит около 5 лет, а общее снижение платы за сверхнормативный сброс соединений азота и фосфора в водные объекты составит более 1 млн. 750 тыс. руб. в год.

Перспективы дальнейшего развития темы исследования связаны с совершенствованием подходов к решению научно-практических задач по разработке новых биотехнологий глубокой очистки сточных вод от комплекса биогенных элементов, основанных на изучении состава, структуры и свойств микробных сообществ активного ила и биопленки и создании условий культивирования отдельных микробных групп.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ ИЗЛОЖЕНО В ПУБЛИКАЦИЯХ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России:

1. **Хасанова А.А.** Изучение способности бактерий активного ила к образованию биопленок *in vitro* / **А.А. Хасанова**, Е.В. Перушкина, А.С. Сироткин // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2024. – Т. 14. – № 2. – С. 207-214. (ВАК, K2).

2. **Хасанова А.А.** Влияние физико-химических факторов среды на устойчивость бактериальных биопленок на основе микробных сообществ активного ила / **А.А. Хасанова**, Е.В. Перушкина, А.С. Сироткин // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2024. – Т. 15. – № 4. – С. 535-547. (ВАК, K2).

Статья в издании, входящем в международную реферативную базу данных и систему цитирования:

3. **Khasanova A.A.** Succession of the activated sludge microbial community and phosphorus removal performance in a sequencing batch reactor during transition from an anoxic/aerobic system to EBPR / **A. Khasanova**, A. Pelevina, E. Gruzdev, A. Dorofeev, V. Grachev, Y. Nikolaev, A. Beletsky, A. Sirotkin, A. Mardanov, N. Pimenov // Water. – 2026. – Vol. 18. № 8. – Art. 951. (Scopus (Q1)).

Публикации в сборниках научных трудов и материалов конференций:

4. **Хасанова А.А.** Моделирование биологической дефосфатации сточных вод / **А.А. Хасанова**, И.С. Хафизова, А.Р. Хабибуллина, Е.В. Перушкина // Современная биология и биотехнология: проблемы, тенденции, перспективы: сборник докладов и тезисов Всероссийской научно-практической конференции. – Волгоград, 2022. – С. 32-35.

5. **Хасанова А.А.** Влияние условий дефосфатации на ферментативную активность биоценоза активного ила / **А.А. Хасанова**, Е.В. Перушкина, А.С. Сироткин // Симбиоз-Россия 2022: сборник статей XIII Международной конференции ученых-биологов. – Пермь, 2023. – С. 880-883.

6. **Хасанова А.А.** Особенности формирования биопленок *Bacillus proteolyticus* для биологической дефосфатации коммунальных сточных вод / **А.А. Хасанова**, Е.В. Перушкина, А.С. Сироткин, Ю.Г. Максимова // Экология и безопасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов ELPIT 2023: сборник трудов IX Международного экологического конгресса. – Самара, 2023. – Т. 2. – С. 81-85.

7. **Хасанова А.А.** Оценка дефосфатирующей способности иммобилизованных клеток *Rhodococcus erythropolis* 11-2 / **А.А. Хасанова**, Е.В.

Перушкина, А.С. Сироткин, Ю.Г. Максимова // Пищевые технологии и биотехнологии: материалы XVIII Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием. – Казань, 2023. – С. 506-510.

8. **Хасанова А.А.** Оценка дефосфатации на очистных сооружениях малой производительности / **А.А. Хасанова**, И.С. Хафизова, А.С. Сироткин, Е.В. Перушкина // ХимБиоSeasons 2023: сборник тезисов Всероссийского форума молодых исследователей. – Калининград, 2023. – С. 100.

9. **Хасанова А.А.** Сравнительный анализ дефосфатирующей способности иммобилизованных бактериальных культур при периодическом культивировании / **А.А. Хасанова**, Е.В. Перушкина, А.С. Сироткин // Биология – наука XXI века: сборник тезисов XXVII Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием. – Пущино, 2024. – С. 402.

10. **Хасанова А.А.** Анализ процесса биологической дефосфатации сточных вод иммобилизованной биомассой микробного сообщества активного ила / **А.А. Хасанова**, А.С. Сироткин // Актуальные аспекты современной микробиологии: сборник тезисов XIV молодежной школы-конференции с международным участием. – Москва, 2024. – С. 202-204.

11. **Хасанова А.А.** Влияние углеродного субстрата на эффективность процесса биологической дефосфатации / **А.А. Хасанова**, Е.Д. Боголюбова, А.Е. Зимина, А.С. Сироткин // Пищевые технологии и биотехнологии: материалы XIX Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием. – Казань, 2025. – С. 783-788.

12. **Хасанова А.А.** Оценка эффективности процесса биодефосфатации сточных вод иммобилизованной биомассой *Alcaligenes faecalis* / **А.А. Хасанова**, М.А. Краснова, К.А. Артеева, А.С. Сироткин // Пищевые технологии и биотехнологии: материалы XIX Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием. – Казань, 2025. – С. 789-792.

13. **Хасанова А.А.** Современные подходы к реализации биологических процессов глубокого удаления азота и фосфора из сточных вод / А.С. Сироткин, **А.А. Хасанова**, Н.И. Кириллова, Т.В. Вдовина // Экология и безопасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов ELPIT 2025: сборник трудов X Международного экологического конгресса. – Самара, 2025. – Т. 1. – С. 161-168.

14. **Хасанова А.А.** Интенсивные процессы биологической дефосфатации сточных вод в условиях развития сообщества фосфатаккумулирующих микроорганизмов / **А.А. Хасанова**, М.А. Краснова, К.А. Артеева, А.С. Сироткин // Актуальные аспекты и перспективы развития современной биотехнологии: сборник докладов II Международной научной конференции. – Белгород, 2026. – С. 345-349.