

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ**

ТАШИРЕВ ОЛЕКСАНДР БОРИСОВИЧ

УДК 579.695

**БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЧИЩЕННЯ ПРОМИСЛОВИХ СТІЧНИХ ВОД
НА ОСНОВІ ТЕРМОДИНАМІЧНОГО ПРОГНОЗУВАННЯ
ВЗАЄМОДІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ З МЕТАЛАМИ ТА
РАДІОНУКЛІДАМИ**

03.00.20 - біотехнологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора технічних наук

Київ – 2005

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Науковий консультант: член-кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, професор **Андреюк Катерина Іванівна**, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Офіційні опоненти: доктор технічних наук **Циганков Сергій Петрович**, Інститут харчової хімії і технології НАН України, заступник директора з наукової роботи та нової техніки

доктор хімічних наук, професор
Ульберг Зоя Рудольфівна,
директор Інституту біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренко
НАН України

доктор біологічних наук
Єгоров Віктор Миколайович,
Інститут біології південних морів НАН України, завідувач
відділом радіаційної та хімічної біології

**Провідна установа: Національний університет «Львівська політехніка»,
Міністерство освіти і науки України**

Захист дисертації відбудеться “_____” березня 2005 р. о _____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.058.03 при Національному університеті харчових технологій Міністерства освіти та науки України за адресою: Київ 01033, вул. Володимирська, 68.

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Національного університету харчових технологій Міністерства освіти та науки України за адресою: Київ 01033, вул. Володимирська, 68.

Автореферат розісланий “_____” _____ 2005 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат технічних наук



В. М. Поводзинський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сучасний розвиток промисловості зумовив постійний потужний викид у довкілля хімічних елементів та сполук, що є вкрай чужорідними для природи, у тому числі металів та радіонуклідів. Важкі метали¹ є дуже токсичними для довкілля, до них відносять сполуки Hg, Cd, Cr, V, Ni, Cu та ін. Вони потрапляють у довкілля при видобутку та переробці корисних копалин, з стічними водами (далі - стоками) металургійних і гальванічних виробництв та при похованні металовмісних відходів на звалищах. В Україні щорічний скид металовмісних стоків становить більш як 800 млн. м³. До окремої групи забруднень відносять радіонукліди, які переважно є радіоактивними ізотопами металів (наприклад, ¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr, ²³⁸U, ²³⁹, ²⁴²Pu, ²⁴¹, ²⁴³Am та ін.). Невід'ємною складовою паливно-енергетичних ядерних циклів є утворення рідких радіоактивних відходів (РРВ), що містять радіоактивні ізомери металів. Великі обсяги РРВ знаходяться на території Зони відчуження (Чорнобиль).

Існуючі на теперішній час природоохоронні технології не забезпечують знешкодження промислових стоків, що містять широкий спектр токсичних та радіоактивних металів. Причинами цього є недосконалість та велика собівартість фізико-хімічних технологій а також утворення вторинних твердих відходів (кінцевих продуктів), що не менш небезпечні для довкілля, ніж вихідні стоки. Широке впровадження мікробних технологій обмежується складністю їх підготовки та експлуатації. Крім того, кожна мікробна технологія є унікальною у тому розумінні, що мікробний штам або асоціація мікроорганізмів адаптовані тільки до певного складу металів у стоку і не можуть бути використані на інших підприємствах, які мають відміни у складі стоку. З огляду на викладене, існує нагальна необхідність розробки та впровадження таких нових технологій знешкодження металовмісних та радіоактивних стоків, що органічно поєднують в собі позитивні властивості як фізико-хімічних, так і мікробних технологій та позбавлені притаманних їм недоліків.

Мета і задачі досліджень. Мета роботи полягала в розробці та створенні універсальних мікробних технологій очищення промислових стоків від широкого спектру важких металів, радіонуклідів та органічних забруднень на базі теоретичної концепції термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами.

Для реалізації мети послідовно вирішувались такі задачі:

1. Розробка концепції прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами періодичної системи елементів Д.І. Менделєєва.
2. Перевірка відповідності теоретичних положень експериментальним даним.
3. Розробка та створення універсальних мікробних препаратів, та на їх основі – нових технологій очистки промислових стоків від широкого спектру токсичних металів, радіонуклідів та органічних забруднень.
4. Випробування технологій очистки промислових стоків на базі розроблених мікробних препаратів.

¹ Важкі метали – тут і далі – катіони, аніони та комплексні сполуки окислених форм металів.

Об'єкти досліджень. Об'єктами досліджень були: музейні культури мікроорганізмів (16 штамів), мікробні синтрофні асоціації, змішані мікробні угруповання та мікробні препарати. Хімічні елементи представлені важкими металами (19 елементів) та радіонуклідами (14 ізотопів). Досліджено модельні і промислові стоки, що містили важкі метали, радіонукліди та органічні забруднення.

Предмет досліджень. Предметом досліджень були закономірності взаємодії музейних культур, синтрофних асоціацій і змішаних мікробних угруповань з широким спектром металів і радіонуклідів та розробка і створення на основі вказаних закономірностей універсальних біотехнологій очистки промислових стоків.

Методи досліджень. Наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації, базуються на теоретичних (термодинамічних) методах розрахунків. Експериментальні результати роботи отримані при застосуванні мікробіологічних, фізіологічних, біохімічних, хімічних, хіміко-аналітичних та фізико-хімічних методів досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. З метою створення нових очисних біотехнологій розроблена концепція термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами періодичної системи елементів Д.І. Менделєєва. Новизна її полягає в тому, що кожний метал є окисно-відновним та (або) стереохімічним аналогом певного «макроелементу»², що призводить до неспецифічної взаємодії з металами неадаптованих до них мікроорганізмів. Мікробне відновлення будь-якого металу можливе лише тоді, якщо його стандартний редокс-потенціал (E_o') знаходиться в межах термодинамічної стійкості води ($+814 > E_o' > -414$ мВ), а акумуляція металів - при близькості іонних радіусів металів (Cu^{2+} , Rb^+ , CrO_4^{2-} та ін.) та макроелементів (K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} та ін.). Концепцію підтверджено експериментально на 16 музейних культурах, синтрофних асоціаціях та змішаних мікробних угрупованнях (що складаються з декількох асоціацій) та широкому спектрі металів і радіонуклідів. Вперше показано, що неспецифічне відновлення металів мікроорганізмами є розповсюдженим явищем, яке зумовлено термодинамічними властивостями бінарної редокс-системи: донорної (метаболічно активні мікроорганізми) і акцепторної (окислена форма металу). Різниця редокс-потенціалів ($\Delta E_o'$) цих систем у ≈ 100 мВ робить відновлення металів термодинамічно неминучим. Розроблено теоретично та

2 - «Макроелементи» – тут і далі, - це катіони та аніони металів (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , MoO_4^{2-} та ін.) і сполуки інших елементів (NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} та ін.), що необхідні мікроорганізмам для енергетичного та конструктивного метаболізму.

підтверджено експериментально узагальнену модель інтегральних механізмів акумуляції металів мікробними синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями. Встановлена можливість регуляції мікробного метаболізму, що дозволяє реалізувати будь-який з теоретично обґрунтованих оптимальних технологічних процесів очищення стічних вод від широкого спектру металів та радіонуклідів. На базі зазначених теоретичних положень розроблені наукові основи універсальних мікробних природоохоронних технологій та створені два нових мікробних препарати, – «мікробний біокаталізатор» (МБК) та «змішані мікробні угруповання» (ЗМУ), що призначені для очистки промислових стоків від широкого спектру токсичних металів, радіонуклідів та органічних забруднень.

Практичне значення одержаних результатів. На основі розроблених гранульованих мікробних препаратів МБК і ЗМУ створені та випробувані з позитивним результатом нові біотехнології очищення промислових, побутових та модельних стоків від токсичних металів, радіонуклідів і органічних забруднень. За допомогою біотехнологій здійснено очистку *промислових стоків*: від хроматів та супутніх органічних забруднень до показників «технічно чиста вода» (завод «Коммаш», м. Київ), від ртуті (завод «Каустик», м. Волгоград), від радіонуклідів (Спецкомбінат «Радон» та Інститут ядерних досліджень НАН України), *побутових стоків*, що пройшли очистку в аеротенках, – від зникаюче малих концентрацій металів (на рівні декількох мікрограмів у літрі), *модельних стоків* від металів у високих концентраціях (1000 мг/л Hg^{2+} та 10000 мг/л Cu^{2+}), широкого спектру важких металів (18 металів з загальною концентрацією 360 мг/л), а також ^{238}U , ^{239}Pu та ^{241}Am (Інститут геохімії та фізики мінералів НАН України). Препарати МБК та ЗМУ очищують згадані стоки від широкого спектру металів у діапазоні концентрацій від 6 мкг/л до 10000 мг/л, а також забезпечують вилучення радіонуклідів з рідких радіоактивних відходів (РРВ) із зменшенням активності в середньому на 3 – 4 порядки. Згадані біотехнології дозволяють не тільки знешкодити токсичні стоки, але й отримати товарні продукти, – технічно чисту воду та концентрат кошовних металів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами. Дисертаційна робота включає дослідження, виконані згідно планам науково-дослідних робіт відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України за темами: 2.5.4.5. “Вивчення взаємодії мікроорганізмів з важкими металами та розробка теоретичних основ мікробних технологій очистки промислових стоків від важких металів (1992-1996 р.)”, 12/48 “Вивчення механізмів детоксикації важких металів мікроорганізмами та біологічного значення мікробної трансформації металів (1992-1996 р.)” та 2.28.9.10 “Формування та функціонування біоплівки як чинника мікробної індукованої корозії (1999-2003 р.)”. Робота також включає дослідження за фундаментальними та прикладними проектами Державного комітету України з питань науки і технологій по Державній програмі 01 “Охорона довкілля”, проект № 2/161-2000 від 09.08.2000 та № 2Р/349-2000 від 05.12.2000.

Особистий внесок здобувача. Ідеї, гіпотези, концептуальна база, розробка програми

і проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів та

написання публікацій належать особисто автору. О. Б. Таширев персонально розробив концепцію термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами періодичної системи елементів Д. І. Менделєєва, обґрунтував закономірності мікробної акумуляції токсичних металів і радіонуклідів внаслідок їх стереохімічної аналогії з макроелементами. Автор також розробив концепцію інтегральних механізмів і теоретичну модель акумуляції широкого спектру металів мікробними синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями. О. Б. Таширев особисто розробив теоретичні основи нових мікробних природоохоронних технологій на основі синтрофних асоціацій і змішаних мікробних угруповань та персонально виготовив спеціальні модифікації мікробних гранульованих препаратів “мікробний біокаталізатор” (МБК) і “змішані мікробні угруповання” (ЗМУ). Автором розроблені конструкції установок з очищення стоків від металів і радіонуклідів та сформульовані технічні завдання для дослідно-промислових випробувань мікробних препаратів.

Кількісний аналіз металів атомно-адсорбційним методом був виконаний за допомогою д-ра хім. наук А.І. Самчука, аналіз урану та трансуранових елементів – разом з С.І. Чебаненко (Інститут геофізики та фізики мінералів НАН України), аналіз радіонуклідів методом нейтронної активації – за участю В.М. Шевеля (Інститут ядерних досліджень НАН України). Дослідження акумуляції металів препаратом МБК здійснювали спільно з д-ром біол. наук А.Ф. Антипчук та кандидатами біологічних наук В. М. Рангєловою, С.Б. Яновер і Г.Ф. Смирною (Інститут мікробіології і вірусології НАН України). У дослідно-промислових випробуваннях МБК-технології на заводі «ВАТ Коммаш» брали участь д-р біол. наук А.Ф. Антипчук, канд. біол. наук В. М. Рангєлова, і Г.Ф. Смирнова (Інститут мікробіології і вірусології НАН України) та А.М. Шаховський (Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України), які є співавторами робіт.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації були представлені на щорічних наукових конференціях-конкурсах робіт Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (1991–2003 рр.). Результати викладено також на міжнародній конференції “Биоколлоид-95” (Київ, 1995 р.), промисловій виставці UNIDO в Україні “INTECHMART-97” (Київ, 1997 р.), виставці “BIOTECHNIKA 2001” (Німеччина,

Ганновер, 2001), IV Міжнародній науково-практичній конференції «Об'єкт Укриття», 15 років: минуле, сучасне, майбутнє (2001 р.)» та Міжнародній конференції «Екологія та біогеохімічна діяльність мікроорганізмів (Одеса, 2001 р.)».

Публікації. За темою дисертації опубліковано 27 наукових робіт, у тому числі 23 статті у фахових виданнях, та 2 патенти.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається з вступу, огляду літератури (2 розділів), експериментальної частини (7 розділів, у тому числі обговорення результатів), висновків, списку цитованої літератури, який включає 504 найменування, та додатків (акти експертиз та випробувань технологій і препаратів). Робота викладена на 337 стор. машинописного тексту, ілюстрована 62 рисунками і 68 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури складається з 2 розділів. У розділі 1 дана загальна характеристика взаємодії мікроорганізмів з широким спектром металів та розглянуті основні види взаємодії мікроорганізмів з металами. У розділі 2 системно викладені закономірності взаємодії мікроорганізмів з металами (і радіонуклідами) періодичної системи елементів. Подані загальні властивості важких металів, токсичні концентрації та механізми ушкоджуючої дії металів по відношенню до мікроорганізмів. Описано адаптацію мікроорганізмів до токсичних металів та численні механізми захисту від них. Охарактеризовані метаболічні шляхи трансформації металів мікроорганізмами та біологічне значення їх взаємодії з металами. Розглянуто технологічні аспекти використання мікроорганізмів в очистці металовмісних стоків та РРВ.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були музейні культури мікроорганізмів, синтрофні асоціації, змішані мікробні угруповання, мікробні препарати МБК та ЗМУ, важкі метали та радіонукліди, модельні, побутові і промислові стоки, рідкі радіоактивні відходи (РРВ).

Музейні культури (16 штамів) представлені аеробними (*Bacillus subtilis* 316М, *B. licheniformis* CIP 5126, *Corynebacterium ammoniogenes* BKM B-672, *Arthrobacter globiformis* BKM B-6611, *Rhodococcus rhodochrous* ATCC 13808, *Micrococcus luteus* CCM 169, *Brevibacterium linens* CCM 1924,) *Alcaligenes calcoaceticus* IMET 10455, факультативно-анаеробними (*Escherichia coli* K 12, *Pseudomonas denitrificans* ATCC 19244, *P. aeruginosa* ATCC 10145) та облигатно-анаеробними (*Clostridium lituseburense* K-1, *C. acetobutylicum* K-2, *C. butyricum* K-3, *Desulfovibrio desulfuricans* (ИНМИ 32/3) та *D. macestii* R-1) мікроорганізмами. Досліджені такі синтрофні асоціації, як «активний мул аеротенку», «зброджений осад метантенку», та ін. Змішані мікробні угруповання отримували поєднанням окремих синтрофних асоціацій. Розроблені нами препарати представлені МБК («мікробним біокаталізатор») та ЗМУ («змішані мікробні угруповання»).

Метали представлено 19 елементами, що відносяться до восьми груп періодичної системи елементів: I група - Li^+ , Cu^{2+} , Ag^+ ; II - Zn^{2+} , Sr^{2+} , Cd^{2+} та Hg^{2+} ; III - Al^{3+} ; IV - Sn^{4+} , Ti^{4+} та Pb^{2+} ; V - VO_3^- ; VI - CrO_4^{2-} , MoO_4^{2-} та WO_4^{2-} ; VII - Mn^{2+} та VIII група - Fe^{3+} , Fe^{2+} , Co^{2+} та Ni^{2+} . Радіонукліди представлено 14 ізотопами, що відносяться до таких груп елементів: I група - ^{28}Na , ^{40}K , ^{83}Rb , ^{134}Cs та ^{137}Cs ; II - ^{90}Sr , III - ^{140}La , ^{144}Ce , ^{238}U , ^{239}Pu та ^{241}Am ; VI - ^{51}Cr ; VII - ^{54}Mn та VIII група - ^{60}Co .

Моделльні стоки були такі: розчини з ртуттю ($1000 \text{ мг/л Hg}^{2+}$) та міддю ($10000 \text{ мг/л Cu}^{2+}$), з 18 металами (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} та ін., загальна концентрація 360 мг/л), штучні РРВ (^{238}U , ^{239}Pu та ^{241}Am), та ін. Побутові стоки представлені міськими стоками після їх очистки в аеротенках (Бортничеська станція аерації). Промислові стоки представлено РРВ Комбінату «Радон» та Інституту ядерних досліджень НАН України, хроматвмісними стоками Київського заводу комунального машинобудування «Коммаш» та ртутьвмісними стоками Волгоградського заводу «Каустик».

Для культивування аеробних мікроорганізмів використовували загальноприйняті у мікробіології методи. Анаеробні мікроорганізми вирощували за Хангейтом та за допомогою розробленого нами спеціального культиватора. Як відновники застосовували H_2S , Na_2S , FeS , Na_2SO_3 , цитрат Ti(III) , цистеїн-сульфід та запропоновані нами V(III) , Fe^{2+} , Fe(OH)_2 , Fe^0 , Ti(OH)_3 та амальгаму Zn^0 . Мікроорганізми вирощували на таких живильних середовищах: м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) і його аналоги (Standart-I та Standart-II виробництва фірми "Serva"); середовище Гіса (у г/л): $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1,0$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 1,0$; $\text{NH}_4\text{Cl} - 1,0$; глюкоза $- 20,0$; сухий дріжджовий екстракт ("Serva") $- 5,0$; дистильована вода $- 1000 \text{ мл}$. Кількісний облік мікроорганізмів за фізіологічними групами здійснювали методом граничних розведень на середовищах: Гільтая (денітрифікуючі), Омелянського (целюлозоруйнівні), Постгейта (сульфатвідновлювальні), Жиліної (метаногенні). Для мікробіологічної характеристики препаратів МБК та ЗМУ проводили кількісний облік мікроорганізмів за фізіологічними групами методом граничних розведень. Окисно-відновний потенціал (Eh або редокс-потенціал) вимірювали потенціометричним та колориметричним методами. Склад газу визначали газохроматографічним, а оптичну густину культур (D) у рідкому середовищі – фотоелектроколориметричним методами.

Акумуляцію металів визначали за такими показниками, як C_o – початкова концентрація металів у розчині, C_p – рівноважна (кінцева) концентрація металу у розчині, $\Delta C = C_o - C_p$; ступінь вилучення металів $R = (\Delta C : C_o) \cdot 100 \%$; коефіцієнт акумуляції металів $Kd = (\Delta C : C_o) \cdot (m_1 : m_2)$, де m_1 та m_2 - маса розчину та мікробної біомаси відповідно. Для кількісного визначення металів використовували такі методи: колориметричний (при концентрації металів $1,0$ - $10000,0 \text{ мг/л}$), атомно-адсорбційний ($0,01$ - $20,0 \text{ мг/л}$), нейтронно-активаційний ($0,01 \text{ мг/л}$ та менше). Об'ємну активність радіонуклідів (Ки/кг) у РРВ ядерного реактора вимірювали спектрометричним методом за допомогою германієво-літійового детектору (об'ємом 200 см^3) з подальшою обробкою інформації на аналізаторній системі "NUK-8090". Мінімальна детектована активність (МДА) складає $1 \cdot 10^{-12} \text{ Ки/кг}$ ($1 \text{ Ки} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ Бк}$). Для визначення γ -випромінюючих ізотопів у РРВ Комбінату "Радон" використовували γ -спектрометр "VARCO" фірми "SELENA" з напівпровідниковим детектором з надчистого германію (МДА $0,29 \text{ Бк/кг}$ при тривалості виміру 10000 сек). β -активність вимірювали радіометром NKR-610 з проточним метановим детектором (МДА $- 0,03 \text{ Бк/кг}$, тривалість виміру- 1000 сек). Ефективність очистки (E) для кожного виду випромінювань визначали як $E = (C_o - C_i) : C_o \cdot 100\%$, де C_o - вихідна питома активність радіонуклідів (Ки/кг або Бк/кг), C_i - активність в очищеному розчині через n годин. Поділ, препарування та визначення α -активності розчинів ^{238}U , ^{239}Pu та ^{241}Am проводили за методикою, затвердженою Міжвідомчою комісією з радіаційного контролю природного середовища.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. Розробка нових та модифікація існуючих методів культивування анаеробних мікроорганізмів. Для вивчення взаємодії мікроорганізмів з металами нами розроблені нові та модифіковані існуючі методи культивування анаеробних мікроорганізмів. Модифіковано метод Хангейта для виділення ізольованих колоній облигатно анаеробних бактерій у флаконах: площа агаризованої поверхні середовища у флаконі вдвічі більша, ніж у Хангейтівській пробірці. Розроблений анаеробний культиватор, який забезпечує стерильність, герметичність та безперервність вимірів в атмосфері аргону pH , Eh , оптичної густини середовища та складу газу. Запропоновано новий спосіб приготування та стерилізації $Ti(III)$, який дозволяє широко застосовувати його у техніці анаеробіозу. Розроблено та випробувано 4 нових нетоксичних відновника: $Fe(II)$, цитрат $V(III)$, Fe^0 та амальгама Zn^0 , які забезпечують культивування облигатно-анаеробних мікроорганізмів як у періодичних, так і проточних умовах при $Eh = -150 \dots -500$ мВ.

2. Прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами. Теоретичною основою нових технологій очистки металовмісних стоків та РРВ є розроблена нами узагальнююча концепція взаємодії мікроорганізмів з металами, яка дозволяє теоретично обґрунтувати та реалізувати найбільш ефективний механізм (або механізми) очистки промислових стоків від широкого спектру металів та радіонуклідів.

Концепція включає такі складові:

- термодинамічне прогнозування мікробного відновлення металів;
- прогнозування мікробної акумуляції металів внаслідок їх стереохімічної аналогії з макроелементами;
- закономірності інтегральних механізмів акумуляції металів мікробними синтрофними асоціаціями (МСА) та змішаними мікробними угрупованнями (ЗМУ).

Термодинамічне прогнозування мікробного відновлення металів базується на таких положеннях:

1. Можливість мікробного відновлення металів впливає з термодинамічних властивостей води, енергетичних (дисиміляторних) характеристик мікроорганізмів та редокс-характеристик металів: катаболічне відновлення будь-якого металу можливе лише в зоні термодинамічної стійкості води ($+814 > E_o' > -414$ мВ) та якщо різниця потенціалів ($\Delta E_o'$) між донорною системою (редокс-ферментна система мікроорганізмів) та акцепторною (метал) становить щонайменше 100 мВ.

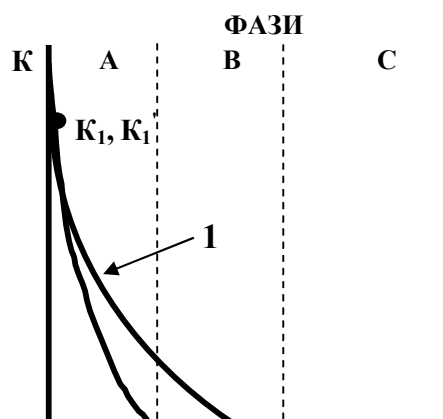
2. Метали мають редокс-аналогії серед термінальних акцепторів електронів (H^+ , SO_4^{2-} , Fe^{3+} , NO_3^- , O_2 та ін.). Редокс-аналогія припускає близькість або рівність редокс-потенціалів реакцій відновлення певного металу та акцептора, внаслідок чого метали відновлюють неадаптовані до них мікроорганізми (явище неспецифічного мікробного відновлення металів).

3. Величина показника E_o' дозволяє прогнозувати мікробне відновлення всіх валентних форм будь-якого металу. Згідно концепції, всі метали періодичної системи елементів у відповідності із значеннями E_o' розділені на три групи. Перша група представлена такими металами, що ні за яких умов не можуть бути відновлені мікроорганізмами у катаболічних процесах, тому що для них $E_o' < -414$ мВ (29 металів). До цієї групи віднесені, наприклад, Li^+ , Zn^{2+} , Al^{3+} , які мають E_o' відповідно -3045 , -763 та -1663 мВ. До другої групи віднесені 26 металів, для яких E_o' знаходяться у межах термодинамічної стійкості води ($+814 > E_o' > -414$ мВ). Так, можливе мікробне відновлення Cu^{2+} до Cu^0 ($E_o' =$

+153 мВ), CrO_4^{2-} до $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ($E_o' = +555$ мВ), Ti^+ до Ti^0 ($E_o' = +336$ мВ), і т.п. У третю групу включені “високопотенційні” метали, E_o' яких значно вищий за верхню межу термодинамічної стійкості води ($E_o' = +814$ мВ). Так, для реакції $\text{Ti}^{3+} + 2e = \text{Ti}^+$, $E_o' = +1252$ мВ. Ці метали відновлюються будь-якими редокс-ферментами та екзометаболітами (амінокислоти, жирні кислоти та ін.) мікроорганізмів.

Прогнозування мікробної акумуляції металів внаслідок їх стереохімічної аналогії з макроелементами. Концепція неспецифічної акумуляції металів мікроорганізмами базується на близькості або рівності іонних радіусів металу і “макроелементу”. Рецепторні та транспортні системи мікробної клітини “поміляються” внаслідок стереохімічної аналогії металів та “макроелементів”, і тому метали неспецифічно акумулюються мікробною клітиною. Під “неспецифічністю” ми розуміємо акумуляцію металів неадаптованими до них мікроорганізмами. Серед “макроелементів” нами виділені три групи іонів, що мають близькі іонні радіуси та утворюють три зони стереохімічної аналогії. Першу зону макроелементів утворюють Fe^{3+} , Mg^{2+} і Fe^{2+} (розмір іонів 0,06-0,083 нм), другу зону – Na^+ і Ca^{2+} (0,095-0,106 нм), та третю зону – K^+ і NH_4^+ (0,113-0,159 нм). Найбільша кількість іонів важких металів (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} та ін.) відноситься до першої зони (64 катіони), до другої зони - 20, і до третьої – 12 катіонів металів. Отже, майже всі метали є стереохімічними аналогами макроелементів, і тому метали поглинаються мікроорганізмами. Таким чином, неспецифічну акумуляцію широкого спектру токсичних металів можуть здійснювати неадаптовані до них мікроорганізми.

Інтегральні механізми акумуляції металів мікробними синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями. Вчення В.І. Вернадського про біосферу є узагальненням властивостей живої матерії і може бути ефективно використано для розробки теоретичних моделей взаємодії біологічних систем з хімічними елементами, у тому числі – з металами та радіонуклідами. Співставлення властивостей “живої матерії” (сукупності всіх організмів біосфери, за В.І. Вернадським) та мікробних синтрофних асоціацій (далі - асоціацій) призвело до висновку про їх подібність за такими ознаками: широке видове різноманіття живих осіб та метаболічних процесів, висока концентрація біомаси (кількість істот, їх маса) та пов'язана з цим висока швидкість накопичення хімічних елементів. На основі цього нами розроблена концепція взаємодії асоціацій з широким спектром металів. Головні положення такі: метаболічно активні мікроорганізми асоціацій акумулюють будь-які метали; для їх акумуляції необхідні донори вуглецю та енергії; акумуляція відбувається у всіх фазах метаболічної активності асоціації; накопичення металів у кожній фазі відбувається за рахунок одночасної реалізації багатьох незалежних механізмів внаслідок видового та метаболічного різноманіття членів асоціації. На рис. 1 (крива 1) наведена графічна модель акумуляції металів асоціацією.



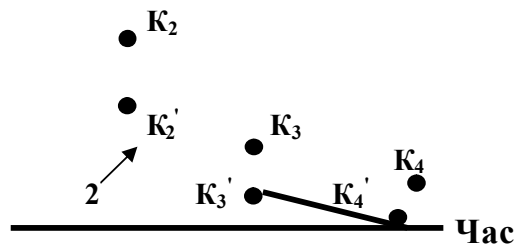


Рис. 1. Теоретична модель інтегральної акумуляції металів окремою мікробною синтрофною асоціацією та змішаними мікробними угрупованнями.

Акумуляція металів: 1-мікробною синтрофною асоціацією, 2-змішаними мікробними угрупованнями. K -концентрація металів. А, В, С- фази метаболічної активності

В моделі виділено три фази: А – адаптивна, В – активного метаболізму, та С – уповільненого метаболізму. Ці фази за своїм біологічним значенням подібні фазам монокультур: лаг-фазі, фазі експонентного росту та стаціонарній фазі відповідно.

У фазі А після внесення інокуляту в розчин з металами відбувається адаптація мікроорганізмів до середовища та одночасно реалізуються переважно фізико-хімічні механізми акумуляції металів (сорбція клітинними стінками, мембранними білками, та ін.), внаслідок чого концентрація металів у розчині різко зменшується від K_1 до K_2 . Відповідно зменшується токсичність розчину та створюються умови для росту мікроорганізмів. У фазі В метали вилучаються при одночасній реалізації декількох механізмів, пов'язаних з ростом та метаболічною активністю мікроорганізмів (відновлення металів до нерозчинних сполук, осадження екзометаболітами та ін.), що призводить до зменшенні концентрації металів від K_2 до K_3 . У фазі С відбувається накопичення екзометаболітів, які відновлюють та осаджують метали, і т.п. Концентрація металів зменшується від K_3 до слідової - K_4 . Відповідно до моделі, будь-яка асоціація повинна взаємодіяти з широким спектром металів та акумулювати їх у всіх трьох фазах метаболічної активності. Ефективність вилучення металів можна підвищити за рахунок використання не окремої асоціації, а *змішаних мікробних угруповань* (ЗМУ), які є сумішшю двох або більше асоціацій. (наприклад, асоціацій збродженого осаду метантенку і коров'ячого гною). Перевагою ЗМУ є розширення спектру джерел живлення, кількісного і якісного складу мікроорганізмів та інтегрування механізмів вилучення металів (рис.1, крива 2).

Розроблена нами концепція прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами дозволяє визначити можливість відновлення та накопичення мікроорганізмами будь-яких металів та вибрати оптимальний напрямок мікробного метаболізму для ефективного вилучення металів та радіонуклідів окремими штамами мікроорганізмів, синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями.

3. Неспецифічна відновна трансформація металів неадаптованими до них музейними культурами. Експериментальна перевірка показала, що у відповідності до теоретичних розрахунків мікробне відновлення металів є неспецифічним процесом, який здійснюють неадаптовані до металів мікроорганізми. Так, музейні культури аеробних, факультативно-анаеробних і облігатно-анаеробних мікроорганізмів відновлюють тільки такі метали, для яких стандартний редокс-потенціал $E_o' > -414$ мВ (табл. 1).

Відновлення металів музейними культурами мікроорганізмів

Метали		Концентрація окислених і відновлених форм металів (мг/л), трансформованих мікроорганізмами						
		<i>Bacillus subtilis</i> 316 M	<i>Alcaligenes calcoaceticus</i> IMET 10455	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>Escherichia coli</i> K 12	<i>Clostridium acetobutylicum</i> K-2	<i>C. butyricum</i> K-3	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> IHMI 32/3
Cr	Cr(VI)*	15,0	14,0	12,0	15,0	15,0	10,0	20,0
	Cr(III)	12,0	8,5	10,0	12,0	14,0	8,5	15,8
	Cr(II)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
V	V(V)*	200,0	100,0	200,0	200,0	180,0	200,0	195,0
	V(IV)	185,0	75,0	190,0	185,0	150,0	175,0	165,0
	V(III)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mo	Mo(VI)*	100,0	100,0	120,0	130,0	200,0	150,0	195,0
	Mo(V)	85,0	62,0	95,5	92,0	157,0	120,0	180,0
	Mo(IV)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fe	Fe(III)*	100,0	100,0	80,0	150,0	120,0	57,0	100,0
	Fe(II)	25,0	35,5	45,0	32,0	25,0	24,0	95,5
	Fe(0)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cu	Cu(II)*	20,0	15,0	15,0	12,0	17,0	10,0	15,0
	Cu(I)	12,5	8,7	10,5	8,5	10,2	6,5	9,5
W	W(VI)*	200,0	200,0	180,0	200,0	190,0	200,0	200,0
	W(V)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ti	Ti(IV)*	200,0	200,0	150,0	150,0	145,0	200,0	200,0
	Ti(III)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Zn	Zn(II)*	200,0	200,0	290,0	200,0	200,0	190,0	200,0
	Zn(0)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Примітка. Cr(VI)*, V(V)* та ін. – початкова концентрація окислених форм металів.

Так, Cr(VI) може бути відновленим тільки до Cr(III), V(V) – тільки до V(IV), Fe(III) – тільки до Fe(II). Подальше відновлення цих металів неможливе і відсутнє внаслідок термодинамічної заборони. Mo(VI) та Cu(II) відновлюються відповідно до Mo(V) та Cu(I). Такі метали, як W(VI), Ti(III) та Zn(II) взагалі не відновлюються мікроорганізмами тому що E_o' відновлення цих металів нижчі за -414 мВ. Мікробне відновлення металів у більшості випадків призводить до їх вилучення з середовища за рахунок утворення нерозчинних відновлених форм. Окислені метали є регуляторами метаболізму. Так, внесення CrO_4^{2-} , VO_3^- , Fe^{3+} та MoO_4^{2-} в метаболічно активні культури *E. coli* і *C. lituseburens* призводить до припинення синтезу H_2 та до значного підвищення *Eh*, а зменшення концентрації окислених форм металів корелює із зниженням *Eh* до вихідної величини та поновлення синтезу H_2 .

Досліджені культури не використовують жоден метал як термінальний акцептор електронів, але жоден з металів (крім хроматів) не пригнічує ріст культур. Наприклад, вихід біомаси *E. coli* при рості в анаеробних умовах однаковий як у відсутності V(V), так і

при його концентрації 1000 мг/л, а *P. aeruginosa*, що не здатна до бродіння, взагалі не росте в анаеробних умовах з V(V) як термінальним акцептором електронів, але відновлює його у концентрації 1000 мг/л при рості в аеробних умовах. Отже, з точки зору біологічного значення, неспецифічне відновлення металів є нейтральним, що дуже важливо для розробки теоретичних основ універсальних мікробних технологій очистки стоків від металів: відновлення та вилучення металів можуть здійснювати неадаптовані до них мікроорганізми.

Музейні культури акумулюють або осаджують екзометаболітами навіть ті метали, які внаслідок термодинамічної заборони не можуть бути відновлені мікроорганізмами: Zn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} та ін. (табл. 2).

Таблиця 2
Акумуляція металів *Clostridium lituseburense* K-1

№	Експозиція, год	Фракція та R^* , %	Концентрація металів, мг/л (7 металів у розчині)						
			Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Mn^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Fe^{2+}
1	0	Клітини	50,0	30,6	26,3	13,8	11,4	8,4	55,0
		СН**	13,6	9,25	10,6	17,9	31,9	25,0	1,1
		R, %	79,0	77,0	71,0	44,0	26,0	25,0	98,0
2	0,5	Клітини	50,0	30,6	26,3	13,8	11,4	8,4	35,0
		СН	11,3	9,25	10,6	17,9	31,9	25,0	3,1
		R, %	82,0	77,0	71,0	44,0	26,0	25,0	95,0
3	1,0	Клітини	50,0	30,6	26,3	13,8	11,4	8,4	55,0
		СН	15,0	9,25	10,6	17,9	31,9	25,0	1,5
		R, %	77,0	77,0	71,0	44,0	26,0	25,0	97,0
4	2,0	Клітини	50,0	30,6	26,3	13,8	11,4	8,4	55,0
		Н	13,1	9,25	10,6	17,9	31,9	25,0	1,5
		R, %	79,0	77,0	71,0	44,0	26,0	25,0	97,0

* - R- ступінь вилучення металів (у %), ** - СН - супернатант

Викладені вище теоретичні положення та їх експериментальне підтвердження свідчать про можливість розробки нових універсальних біотехнологій очистки металовмісних стоків на основі неадаптованих до токсичних металів мікроорганізмів (відходах мікробіологічних виробництв, таких як біомаса активного мулу аеротенків, зброженого осаду метантенків та ін.).

4. Акумуляція широкого спектру металів мікробними синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями. Розробка мікробних препаратів. Для здійснення ефективної очистки промислових стоків від широкого спектру металів на основі мікробних асоціацій, нами розроблені два нових мікробних препарати: “Мікробний біокаталізатор” (МБК) та “Змішані мікробні угруповання” (ЗМУ). Препарати мають такі переваги у порівнянні з існуючими аналогами:

- наявність широкого видового різноманіття мікроорганізмів;
- джерелом мікробних асоціацій слугує біомаса, що є відходами виробництв;
- гранульована, стійка у воді форма, що складається з мікроорганізмів і поживних речовин та не містить інертних носіїв (тому гранули займають майже весь об’єм очисної споруди).

До складу ЗМУ входить більша кількість фізіологічних груп мікроорганізмів у порівнянні з МБК, і тому цей препарат більш ефективно вилучає метали з розчинів.

Акумуляція важких металів МБК за рахунок фізико-хімічної сорбції.

Першим етапом вилучення металів є фізико-хімічна сорбція, завдяки якій МБК вилучає 99,6- 99,8 % Hg^{2+} з розчинів у широкому концентраційному діапазоні, від 20 до 200 мг/л Hg^{2+} (табл. 3).

Таблиця 3

Акумуляція Hg^{2+} препаратом МБК (співвідношення мас МБК і розчину 1 : 20).

Концентрація Hg^{2+} , мг/л			Ступінь вилучення металів, R (%)	Коефіцієнт акумуляції металів, Kd
C_0 (початкова у розчині)	C_p (рівноважна у розчині)	ΔC (в гранулах МБК)		
20	0,08	19,92	99,6	4980
25	0,08	24,92	99,7	6230
50	0,10	49,90	99,8	9980
100	0,20	99,80	99,8	9980
200	0,40	199,60	99,8	9980

МБК поглинає метали як з розчину, що містить разом 18 металів (по 20 мг/л кожного), так і з розчинів, що містять по 1 металу у концентрації 20 мг/л. (рис. 2). Мікроорганізми вилучають переважно двозарядні катіони токсичних металів першої та другої груп елементів (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+}), а також CrO_4^{2-} та Mn^{2+} . МБК акумулює із розчинів 94–98% цих металів за 1 годину, при цьому їх концентрація у розчинах зменшується на 1–2 порядки (з 20 до 0,2–1мг/л). Отже, на першому етапі мікроорганізми вилучають з розчинів тільки за рахунок фізико-хімічних механізмів близько 94,0-99,9% катіонів важких металів, що відносяться до I-VIII груп елементів.

Взаємодія мікроорганізмів препарату МБК з широким спектром металів у фазах А, В та С. Досліди проводили з МБК (асоціація “зброджений осад метантенку”) при масовому співвідношенні МБК та розчину 1:50. Розчин містив 15 металів (по 20 мг/л кожного) з загальною концентрацією метал-іонів 300 мг/л. Тривалість фаз становила: фази А – 1-а - 2-а доба, В – 2-а - 3-тя доба, та С - 3-тя - 6-а доби культивування. Eh знижувався в фазах таким чином: в А - від + 460 до + 320 мВ, у В - від + 320 до 0, а в фазі С - від 0 до – 250 мВ. Приріст біомаси становив у фазі В 0,2 г/л і далі не змінювався.

На рис. 3 показана швидкість акумуляції металів (мг/л·добу) мікроорганізмами у фазах А, В і С. Для більшості металів наявні два, а для Hg^{2+} – навіть три піки підвищеної швидкості акумуляції металів мікроорганізмами. Акумуляція більшості металів мала місце у всіх трьох фазах метаболічної активності, як і передбачалось теоретичною моделлю.

Отримані закономірності можуть бути основою нових біотехнологій, зокрема очистки Hg -вмісних стоків. Для підтвердження цього досліджено вилучення ртуті МБК з модельного та промислового стоку заводу «Каустик» (м. Волгоград).

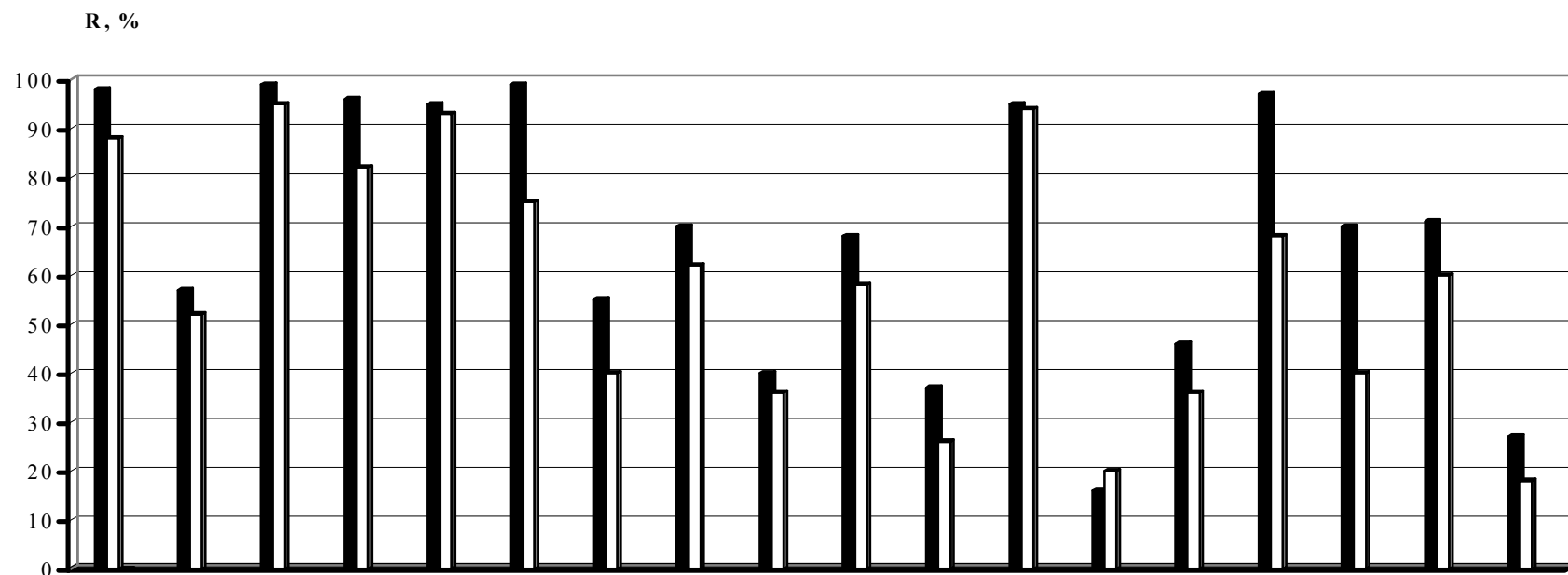


Рис. 2. Ступінь вилучення металів (R , %) мікробним біокаталізатором (МБК).

Експозиція - 1 год, масове співвідношення МБК до розчину 1 : 20. Чорний колір – розчини іонів окремих металів у концентрації 20 мг/л, білий колір - 18 іонів металів у розчині з концентрацією кожного - 20 мг/л.

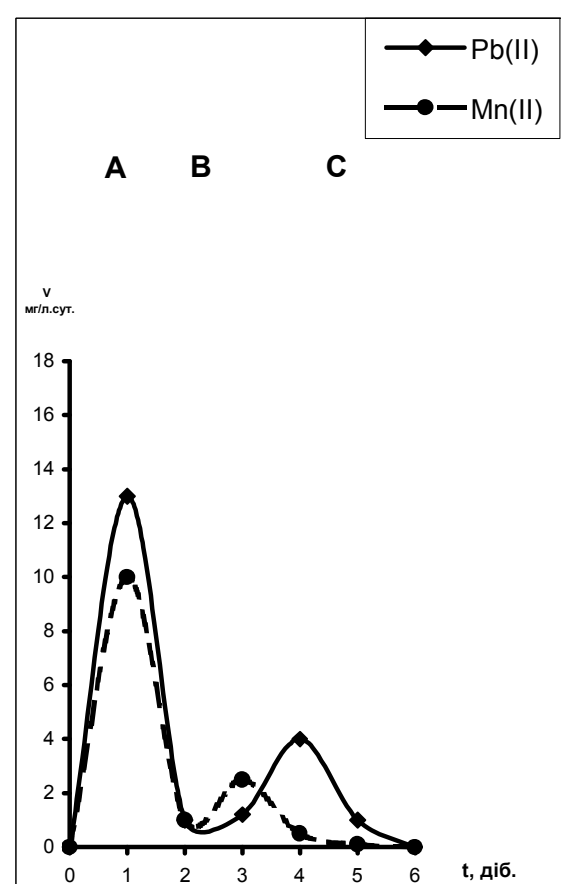
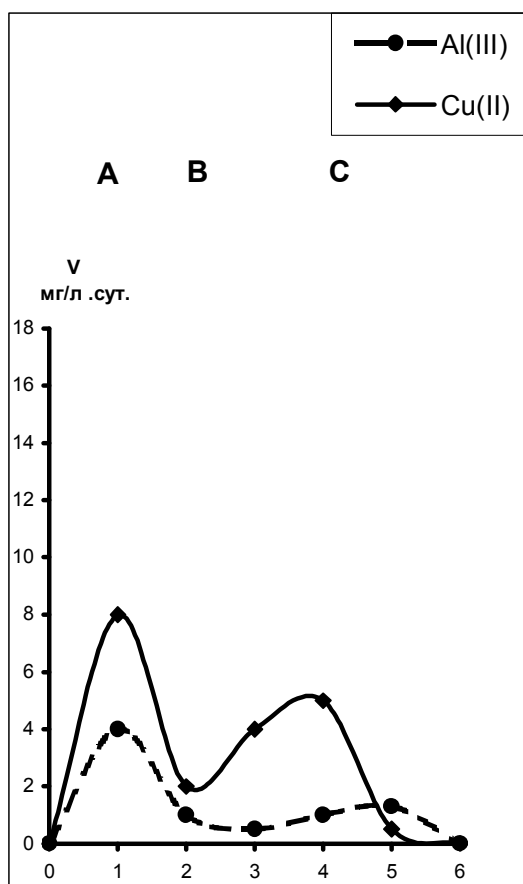
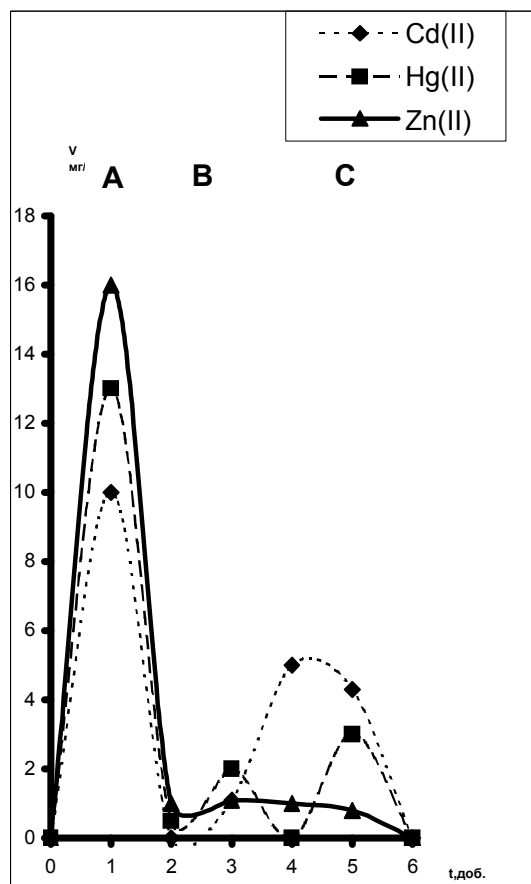


Рис. 3. Швидкість акумуляції металів (V , mg/l/day) мікробним біокатализатором (МБК)

Вилучення Hg^{2+} з модельних та промислових стоків у діапазоні концентрацій 35-1000 мг/л. Вихідні параметри модельного стоку такі: концентрація Hg^{2+} = 1000 мг/л, Eh = +920 мВ, pH = 2 (рис. 4).

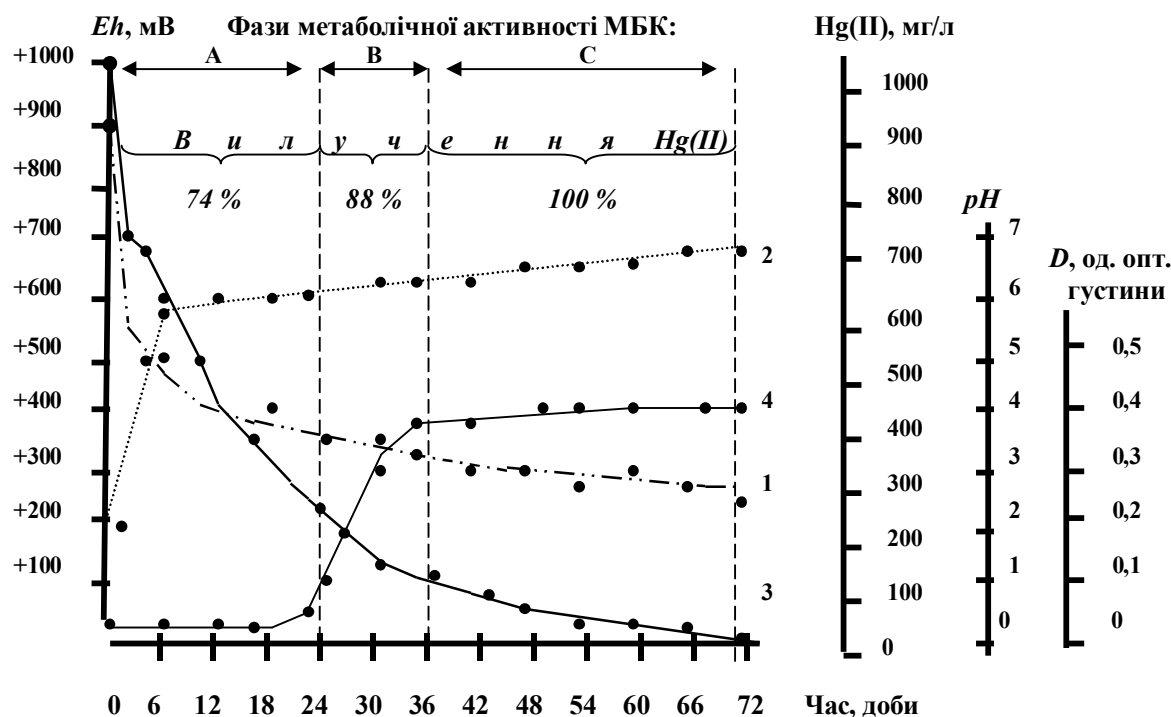


Рис. 4. Вилучення Hg^{2+} з модельного стоку мікроорганізмами МБК у фазах А, В та С (співвідношення мас МБК та розчину - 1 : 40)

1- Eh , мВ, 2- pH , 3 - концентрація Hg^{2+} у розчині, мг/л; 4 - D , од. опт. густ. (біомаса).

У фазі А (0-24 год.) відбувались зміни: Eh від +920 до +360 мВ, pH від 2,0 до 6,0 та концентрації Hg^{2+} - від 1000 до 260 мг/л при відсутності росту. У фазі В (24-36 год) реєстрували приріст біомаси (від 0 до 0,38 од. опт. густини), зниження Eh - від +360 до +320 мВ та зменшення концентрації Hg^{2+} від 260 до 120 мг/л. У фазі С Eh та pH не змінювались, а концентрація Hg^{2+} зменшилась від 120 до 1 мг/л. В фазі А вилучено 74%, в В-88%, і в С-100% Hg^{2+} . Зменшення концентрації Hg^{2+} корелювало із зниженням Eh мікроорганізмами та їх ростом. Таким чином, МБК вилучав Hg^{2+} з розчину не тільки завдяки сорбції, але й редуктазної активності мікроорганізмів ($Hg^{2+} + 2e = Hg^0$, $E_o = +950$ мВ).

Визначені закономірності взаємодії МБК з Hg^{2+} підтверджені при дослідженні очистки стоку заводу «Каустик», що містив 35 мг/л Hg^{2+} і солі K^+ , Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} та ін. з загальною мінералізацією 60000 мг/л. МБК швидко та ефективно вилучав Hg^{2+} з стоку: концентрація Hg^{2+} за 1 годину зменшилась на 4 порядки (з 35 до 0,07 мг/л). Ступінь вилучення Hg^{2+} становила $R = 99,8-99,9\%$, а коефіцієнт акумуляції Kd – 14927-20910. Нова порція МБК призводила до зменшення концентрації $Hg^{2+} < 0,001$ мг/л.

Отже, гранульований препарат МБК на основі збродженого осаду метантенку, ефективно акумулює широкий спектр металів за рахунок послідовної реалізації як фізико-хімічних, так і біологічних механізмів взаємодії з металами.

Взаємодія препарату “змішані мікробні угруповання” (ЗМУ) з металами у широкому концентраційному діапазоні. Властивості ЗМУ передбачають можливість вилучення

металів з розчинів у дуже широкому діапазоні концентрацій. Вилучення металів у зникаюче малих концентраціях вивчено на очищеному в аеротенку побутовому стоку (м. Київ), а високих - на штучному стоку з 10000 мг/л Cu^{2+} . ЗМУ містив дві синтрофні асоціації, - мікроорганізми збродженого осаду метантенку (90%) і коров'ячого гною (9%). Активний мул у аеротенках ефективно очищує побутові стоки від металів, проте і після очистки вода містить токсичні метали в залишкових концентраціях (табл. 4). Виходячи з розробленої нами теоретичної моделі, препарат ЗМУ, на відміну від будь-якої окремої асоціації, здатний до подальшого вилучення металів з очищеного стоку. Через 6 годин після внесення ЗМУ у очищений стік, Eh у шарі стоку знизився від +226 до -150 мВ, а в шарі препарату - від -20 до -312 мВ. Метаболічно активні мікроорганізми ЗМУ зменшували концентрацію металів здебільшого на 2-3 порядки, що свідчить про *ефективність* очистки. Мікроорганізми вилучали всі 17 металів, що відносяться до восьми груп елементів періодичної системи елементів: токсичні важкі метали (Cd, Cr, Zn, Co і Sb), лужноземельні (Ca і Ba), рідкісноземельні (Sc, La, Ce, Sm, Th і Hf) та дорогоцінні (Ag і Au). Отже, препарат ЗМУ проявляв при акумуляції металів таку властивість, як *універсальність*. Привертає увагу той факт, що препарат ЗМУ вилучав з очищеного стоку дорогоцінні метали: концентрація Au зменшилась на 1, а. Ag - на 2 порядки. Звідси випливає, що препарат ЗМУ може бути використаний для видобутку з промислових стоків дорогоцінних металів.

Таблиця 4

Вилучення препаратом “змішані мікробні угруповання” (ЗМУ) металів з очищеного в аеротенку побутового стоку (м. Київ) .

№	Група елементів	Метал	Концентрація іонів металів, г/г розчину			Порядок зменшення концентрації металів в стічній воді
			в стічній воді		у препараті ЗМУ	
			до очистки	після очистки		
1	I	Ag	$4,32 \cdot 10^{-5}$	$2,43 \cdot 10^{-7}$	$6,10 \cdot 10^{-5}$	2
2	I	Au	$6,12 \cdot 10^{-7}$	$3,00 \cdot 10^{-8}$	$5,04 \cdot 10^{-7}$	1
3	II	Ca	$7,05 \cdot 10^{-2}$	$1,23 \cdot 10^{-3}$	$5,45 \cdot 10^{-2}$	1
4	II	Zn	$5,05 \cdot 10^{-3}$	$2,25 \cdot 10^{-4}$	$3,02 \cdot 10^{-3}$	1
5	II	Cd	$4,15 \cdot 10^{-4}$	$1,43 \cdot 10^{-6}$	$1,12 \cdot 10^{-4}$	2
6	II	Ba	$2,43 \cdot 10^{-4}$	$2,37 \cdot 10^{-6}$	$6,93 \cdot 10^{-4}$	2
7	III	Sc	$4,30 \cdot 10^{-6}$	$3,32 \cdot 10^{-9}$	$1,42 \cdot 10^{-6}$	3
8	III	La	$7,01 \cdot 10^{-5}$	$8,01 \cdot 10^{-8}$	$3,51 \cdot 10^{-5}$	3
9	III	Ce	$3,25 \cdot 10^{-5}$	$2,09 \cdot 10^{-6}$	$5,61 \cdot 10^{-5}$	1
10	III	Sm	$5,02 \cdot 10^{-6}$	$4,12 \cdot 10^{-8}$	$2,33 \cdot 10^{-6}$	2
11	III	Th	$3,41 \cdot 10^{-6}$	$4,30 \cdot 10^{-8}$	$2,10 \cdot 10^{-6}$	2
12	IV	Hf	$6,34 \cdot 10^{-6}$	$5,25 \cdot 10^{-8}$	$3,40 \cdot 10^{-6}$	2
13	V	Sb	$4,30 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-8}$	$2,13 \cdot 10^{-5}$	3
14	VI	Cr	$4,32 \cdot 10^{-3}$	$1,15 \cdot 10^{-5}$	$2,55 \cdot 10^{-3}$	2
15	VII	Mn	$5,42 \cdot 10^{-2}$	$2,31 \cdot 10^{-4}$	$3,62 \cdot 10^{-2}$	2
16	VIII	Fe	$3,07 \cdot 10^{-2}$	$3,41 \cdot 10^{-3}$	$1,36 \cdot 10^{-2}$	1

17	VIII	Co	$6,22 \cdot 10^{-6}$	$5,2 \cdot 10^{-8}$	$8,57 \cdot 10^{-6}$	2
----	------	----	----------------------	---------------------	----------------------	---

Препарат ЗМУ також ефективно вилучав метали з концентрованих стоків, а саме: за 15 діб він зменшував у модельному стоці концентрацію Cu^{2+} з 10000 до 125 мг/л ($R = 98,75\%$). Взаємодія мікроорганізмів ЗМУ з металами призвела до утворення суміші нерозчинних сполук Cu(II) та Cu(I) . Про метаболічну активність мікроорганізмів в стоці свідчили знебарвлення резазурину ($Eh < -100$ мВ), синтез CO_2 та наявність рухомих бактеріальних клітин у шарі розчину.

Отримані результати свідчать про можливість застосування мікробних препаратів на основі змішаних мікробних угруповань для очистки промислових стоків від металів у значному концентраційному діапазоні, - від 6 мкг/л до 10000 мг/л.

5. Взаємодія мікробних синтрофних асоціацій та змішаних мікробних

угруповань з радіонуклідами. Особливістю рідких радіоактивних відходів (РРВ) є

дуже мала концентрація радіоактивних металів (радіонуклідів) у розчинах: доли

мікрограмів ^{90}Sr , ^{60}Co зумовлюють активність $n \cdot 10^{-5} - n \cdot 10^{-6}$ Кі/кг. Отже, знешкодження

РРВ фактично є їх очищення від металів у зникаюче малих концентраціях. Очевидно,

що ефективність очистки пропорційна концентрації мікробних клітин у РРВ.

Препарати МБК та ЗМУ на 90-95% складаються з мікроорганізмів, і саме тому вони

ефективно вилучають радіонукліди з РРВ.

Вилучення широкого спектру радіонуклідів гранульованим препаратом МБК. МБК, виготовлений із збродженого осаду метантенку, ефективно очищує РРВ Інституту ядерних досліджень НАН України від широкого спектру радіонуклідів. Мінімальну ефективність акумуляції МБК проявив щодо ^{134}Cs : активність розчину зменшилась на 1 порядок. На 2 порядки зменшилась активність ^{226}Ra , на 3 – ^{144}Ce , на 4 – ^{137}Cs . Для інших радіонуклідів активність зменшилась на 5–6 порядків (табл. 5).

Таблиця 5

Вилучення радіонуклідів МБК (час -3 доби, вагове співвідношення МБК до РРВ 1:2)

Радіонуклід	Об'ємна активність радіонуклідів, Кі/кг			Порядок зменшення активності РРВ
	вихідна в РРВ	в МБК	в РРВ після очистки	
^{51}Cr	$3,90 \cdot 10^{-7}$	$1,18 \cdot 10^{-8}$	$<1,0 \cdot 10^{-12}$	6
^{54}Mn	$6,70 \cdot 10^{-8}$	$4,72 \cdot 10^{-8}$	$<1,0 \cdot 10^{-12}$	5
^{60}Co	$1,09 \cdot 10^{-6}$	$5,3 \cdot 10^{-7}$	$5,36 \cdot 10^{-11}$	5
^{90}Sr	$3,52 \cdot 10^{-7}$	$3,39 \cdot 10^{-7}$	$<1,0 \cdot 10^{-12}$	6
^{134}Cs	$3,84 \cdot 10^{-8}$	$2,36 \cdot 10^{-8}$	$1,16 \cdot 10^{-9}$	1

^{137}Cs	$1,36 \cdot 10^{-5}$	$7,81 \cdot 10^{-6}$	$3,36 \cdot 10^{-9}$	4
^{140}La	$7,01 \cdot 10^{-8}$	$9,67 \cdot 10^{-9}$	$<1,0 \cdot 10^{-12}$	5
^{144}Ce	$6,17 \cdot 10^{-6}$	$3,50 \cdot 10^{-8}$	$7,22 \cdot 10^{-9}$	3
^{226}Ra	$1,21 \cdot 10^{-6}$	$1,11 \cdot 10^{-6}$	$7,60 \cdot 10^{-8}$	2
^{83}Rb	$6,22 \cdot 10^{-7}$	$4,16 \cdot 10^{-7}$	$<1,0 \cdot 10^{-12}$	6

Примітка: ¹ – поріг чутливості спектрометра становить $1,0 \cdot 10^{-12}$ Кі / кг.

Акумуляція ^{238}U , ^{239}Pu і ^{241}Am мікроорганізмами препарату ЗМУ. Уран та трансуранові елементи містяться у промислових стічних водах уранових копалин, гірничо-збагачувальних комбінатів, та ін. Мікробну акумуляцію ^{238}U , ^{239}Pu та ^{241}Am вивчали за допомогою гранульованого препарату ЗМУ, що складався з суміші асоціацій та джерел живлення. Радіонукліди вилучалися метаболічно активними мікроорганізмами: у розчині за 15 годин Eh розчину знизився від +50 до –100 мВ, а через 18 годин спостерігали збільшення оптичної густини внаслідок розмноження мікроорганізмів. Гранули ЗМУ названі нами “макрофазою”, а окремі мікробні клітини в шарі РРВ – «мікрофазою». З представлених даних (табл. 6) видно, що переважна частина активності розподілена у макрофазі. Проте мікрофаза значно підвищувала ефективність вилучення радіонуклідів: при співвідношеннях МБК до РРВ як 1:100, так і 1:20, за рахунок мікрофази коефіцієнт акумуляції радіонуклідів Kd збільшувався на порядок. При збільшенні кількості гранул у 5 разів, R збільшувався на 0,9% для ^{238}U і на 0,7% для ^{239}Pu та ^{241}Am . Отже, власне гранульований препарат ЗМУ та суспендовані клітини мікроорганізмів забезпечують глибоке доочищення розчинів від урану та трансуранових елементів. Таким чином, досліджені мікробні синтрофні асоціації та змішані мікробні угруповання з високою ефективністю вилучають з розчинів широкий спектр радіонуклідів.

Таблиця 6

Акумуляція ^{238}U , ^{239}Pu і ^{241}Am препаратом “змішані мікробні угруповання” (ЗМУ)

№	Радіонуклід C_0 , Бк/кг	Показники акумуляції радіонуклідів ЗМУ (за 5 діб)					
		Макрофаза			Макрофаза та мікрофаза		
		C_p , Бк/кг	$R, \%$	Kd	C_p , Бк/кг	R, %	Kd
Вагове співвідношення ЗМУ до розчину 1 : 100							
1	^{238}U 520±10	13 ± 0,4	97,5	3900 ± 230	5,5±0,1	98,9	9400 ± 500
2	^{239}Pu 1600±40	39 ± 1,0	97,6	4000 ± 2400	14,4±0,1	99,1	11000 ± 600
3	^{241}Am 200±80	71 ± 2,0	97,8	4410 ± 260	27,8±0,7	99,1	11400 ± 600
Вагове співвідношення ЗМУ до розчину 1 : 20							
4	^{238}U 520±10	7,3 ± 0,2	98,6	1400 ± 80	0,99 ± 0,03	99,8	10500 ± 500
5	^{239}Pu 1600±40	19,5 ± 0,6	98,8	1600 ± 100	2,50 ± 0,06	99,8	12800 ± 600
6	^{241}Am 3200±80	36 ± 1,0	98,9	1750 ± 100	5,2 ± 0,1	99,8	12300 ± 600

6. Характеристика препаратів МБК та ЗМУ.

Діючою основою препаратів є гранули, що складаються із живих мікроорганізмів і необхідних для них джерел живлення. Особливими ознаками препаратів є дискретність, універсальність, повна автономність, технологічність, економічність, ефективність, і внаслідок цього – ліквідність технологій.

Дискретність. Гранули МБК та ЗМУ стійкі у розчинах, 2-3 роки зберігають свою структуру та функції. Гранульована форма препаратів дозволяє забезпечити велику швидкість потоку в очисних установках. Гранули у будь-який час можна легко відокремити від водної фази.

Універсальність. До складу препаратів входять мікробні синтрофні асоціації з широким «метаболічним діапазоном». Внесення в препарати різноманітних субстратів (донорів і акцепторів електронів) дозволяє регулювати метаболізм мікробних асоціацій і досягати максимального ефекту очищення стічних вод від ксенобіотиків. Видове різноманіття мікроорганізмів та їх висока концентрація забезпечують одночасну реалізацію декількох незалежних механізмів детоксикації ксенобіотиків. Тому препарати МБК та ЗМУ із високою швидкістю та ефективністю очищують змішані стоки, що містять суміш важких металів, радіонуклідів та органічних сполук.

Повна автономність. До складу МБК та ЗМУ входять всі сполуки, що необхідні для тривалої та ефективної роботи мікроорганізмів (джерела вуглецю та енергії, акцептори і донори електронів, редокс- та рН-буфери, і т.п.). Тому метаболічна активність препаратів не залежить від складу стоку, і МБК та ЗМУ цілком автономні у роботі.

Технологічність. Технології на основі МБК та ЗМУ не вимагають будь-якої попередньої підготовки стоку, тому що до складу гранул входять всі компоненти, що необхідні для ефективного функціонування мікроорганізмів синтрофних асоціацій. Дискретність гранул дозволяє відокремити їх від стоку, висушити й утилізувати спалюванням.

Економічність. Для виготовлення препаратів МБК та ЗМУ використовують екологічно небезпечні відходи (біомаса багатотонажних мікробіологічних виробництв, гній, пташиний послід, рослинні залишки, плодоовочеві відходи, побутове сміття та ін.). Енерговитрати для виготовлення гранульованих препаратів мінімальні. Внаслідок цього препарати мають малу собівартість.

Ефективність. Препарати МБК та ЗМУ ефективно очищують розчини від металів, радіонуклідів та органічних забруднень. МБК вилучає на 98,5-99,9% важкі метали (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , CrO_4^{2-} і т.д.) у діапазоні 0,006 - 10000 мг/л. МБК та ЗМУ знижують активність РРВ по сполукам ^{51}Cr , ^{90}Sr , ^{83}Rb , ^{54}Mn , ^{140}La , ^{60}Co - на 5-6 порядків; вилучають уран, плутоній і америцій на 99,6 - 99,9%. ЗМУ вилучає з дуже розведених розчинів рідкісноземельні та дорогоцінні метали та забезпечує глибоку доочистку стоків від зникаюче малих концентрацій важких металів та органічних забруднень.

Ліквідність. Зазначені властивості препаратів МБК та ЗМУ свідчать про можливість їх широкого застосування на діючих підприємствах. Препарати запатентовані. Розроблені та затверджені ТУ на виготовлення і застосування МБК. Препарати пройшли з позитивним результатом випробування на РРВ Спецкомбінату «Радон» та атомного реактора Інституту ядерних досліджень НАН України, ртутьвмісних стічних водах заводу «Каустик» та хроматвмісних стічних водах заводу Комунального машинобудування, про що отримані відповідні експертні висновки. Головною відмінною ознакою препаратів є їх здатність не тільки очищувати стоки від широкого спектру металів, радіонуклідів і органічних забруднень, але й можливість отримувати такі продукти, що мають споживчу вартість: технічно чисту воду для замкнених виробничих циклів водопостачання та концентрат металів на гранулах препарату.

Застосування. Препарати МБК та ЗМУ можуть бути використані для очищення промислових стоків, що містять широкий спектр радіонуклідів, важких металів і органічних сполук, а також для вилучення рідкісноземельних та дорогоцінних металів.

Обмеження. Препарати МБК та ЗМУ не можуть бути використані для очищення стоків від солей металів головної підгрупи І групи елементів (NaCl та ін.); pH має знаходитись у межах $1 < pH < 12$; температура ефективної дії МБК від $+5^0$ до $+60^0$ С.

Препарати МБК та ЗМУ використані у технологіях очистки промислових стоків.

7. Технологічні випробування мікробних препаратів по очистці промислових стоків.

Препарати МБК та ЗМУ випробувані у технологіях очистки РРВ Спецкомбінату «Радон» та атомного реактора Інституту ядерних досліджень НАН України, а також хроматвмісних стоків київського заводу «Коммаш».

Очистка РРВ на прикладі Спецкомбінату «РАДОН». До складу РРВ Спецкомбінату «Радон» входять 4 радіонукліди з активністю (Бк/кг): ^{137}Cs (10135,7), ^{60}Co (30,7), ^{22}Na (79,6), ^{90}Sr (50192). Біотехнологія передбачала очистку РРВ в періодичних та проточних умовах в касетній установці, що представлена десятима послідовно з'єднаними циліндрами з гранульованим МБК (рис. 5).

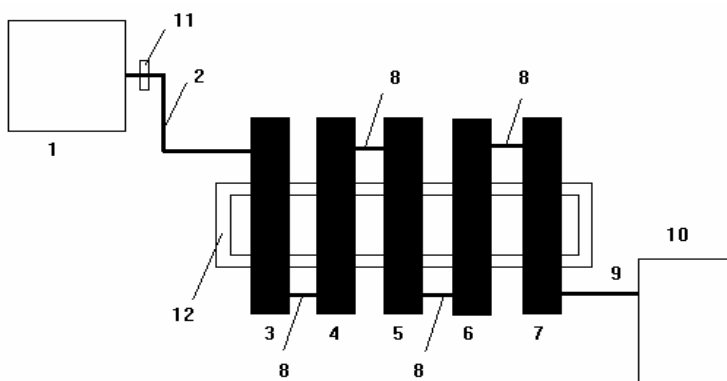


Рис. 5. Схема проточної установки для очистки РРВ за допомогою МБК.

1 - ємність з РРВ; 2 - шланг для подачі РРВ ; 3-7 - колонки з МБК; 8 - шланги сполучення колонок; 9 - шланг для подачі очищених РРВ; 10 - ємність для очищених РРВ; 11 - вентиль подачі РРВ в установку; 12 - рама для закріплення колонок.

У періодичних умовах використовували 2 модифікації МБК. Модифікація МБК-1

виготовлена з живих мікроорганізмів збродженого осаду метантенку (90%) і пташиного посліду (10%). Модифікація МБК-2 виготовлена на 100% з мікроорганізмів активного мулу аеротенків, убитих нагріванням, і не містила пташиного посліду. Обидві модифікації виготовлені у вигляді гранул діаметром 1 мм і довжиною 2–3 мм. Кожну модифікацію МБК заливали РРВ у співвідношенні фаз МБК до РРВ 1:50. Тривалість контакту МБК і РРВ складала 4 доби. Результати очистки РРВ в періодичних умовах представлено в табл. 7.

Таблиця 7
Очистка РРВ мікробним біокаталізатором (МБК).

		Активність, Бк/кг		

Очищення РРВ було ефективним при використанні обох модифікацій МБК. По ^{90}Sr МБК-1 зменшувала активність РРВ в 13,7 рази, а МБК-2 - в 77 разів. Модифікація МБК-1 зменшувала активність по ^{137}Cs в 2,2, а МБК-2 - в 3,7 рази. Обидві модифікації зменшували активність по ^{60}Co в 8,5 разів.

З огляду на викладене, в проточну установку вносили обидві модифікації у співвідношенні 1:1. Максимальна швидкість потоку становила $D = 0,04 \text{ год}^{-1}$. При збільшенні швидкості потоку активність очищеного стоку зростала. МБК мав високу сорбційну ємність, - сумарна активність очищених РРВ була мінімальною при пропусканні 11-12 об'ємів РРВ, рівних об'єму установки, і зростала лише при подальшому збільшенні кількості об'ємів РРВ.

Препарат МБК істотно зменшував активність РРВ, тому його рекомендовано для первинної очистки РРВ з доочисткою на іонообмінних смолах у діючому виробничому циклі на Спецкомбінаті "Радон". Використання МБК на першому етапі очистки забезпечує значну економію смол та знижує витрати на їх поповнення.

Технологія очистки РРВ на прикладі ядерного реактора Інституту ядерних досліджень НАН України. РРВ реактору є типовими для рідких відходів ядерного паливно-енергетичного циклу та містять у своєму складі $^{134}, ^{137}\text{Cs}$ і ^{60}Co з активністю $n \cdot 10^{-7} - n \cdot 10^{-8} \text{ Кі/кг}$. РРВ очищували гранульованим препаратом МБК на основі метаболічно активної метаногенної асоціації: *Eh* у шарі МБК знижувався за 6 годин від +175 до -280 мВ, газова фаза містила 51% CH_4 , 43% CO_2 та 6% N_2 . Установка є циліндром з нержавіючої сталі, що заповнена гранулами МБК

(об'єм гранул - 2,5 дм³). Зверху в установку подавали РРВ у режимі краплинного зрошення. За 12 годин через установку пропустили 100 л РРВ. Зменшення активності РРВ становило: по ¹³⁷Cs - 1, по ¹³⁴Cs - 2, та по ⁶⁰Co - 3 порядки (табл. 8). Таким чином, технологія на основі МБК забезпечувала в проточному режимі очистку РРВ до показників, що відповідають нормативам безпеки НРБ 76/87.

Таблиця 8.

Показники очистки РРВ мікробним біокаталізатором (МБК) у проточній установці

	Активність РРВ (Ки/кг)		
			Н
			о
			9,
			8,
			1,

Розробка безпечного методу утилізації спалюванням відпрацьованого радіоактивного МБК. Утилізація відпрацьованих препаратів є актуальною та складною технологічною задачею. Відпрацьований радіоактивний МБК виймали з проточної установки і висушували в ізотопному боксі на повітрі протягом 2 діб. Висушені гранули МБК зважували і переносили в установку для спалювання, яка схематично зображена на рис. 6. Головними елементами установки є: камера згоряння, система безпеки (призначена для уловлювання летючих продуктів згоряння радіоактивного МБК) і повітряний насос для створення тяги. Для запобігання виносу радіоактивних продуктів горіння, до камери згоряння були послідовно приєднані п'ять блоків системи безпеки, а саме: фільтр з скляної вати, водяний холодильник, конденсатна камера, водяний фільтр та мембранний фільтр. За допомогою насосу створювали тягу, і підпалювали гранули. За 2-3 хвилини гранули згоряли. Після спалювання МБК установку роз'єднували та виміряли радіоактивність (в β-розпад./хв) у складових частинах установки. В зольному концентраті активність складала 25000, на внутрішній поверхні камери згоряння - 70, у фільтрі зі скловати - 120. В інших частинах установки активність мала фонові значення. Отже, спалювання МБК не призводило до виносу радіоактивних продуктів за межі установки. При спалюванні маса

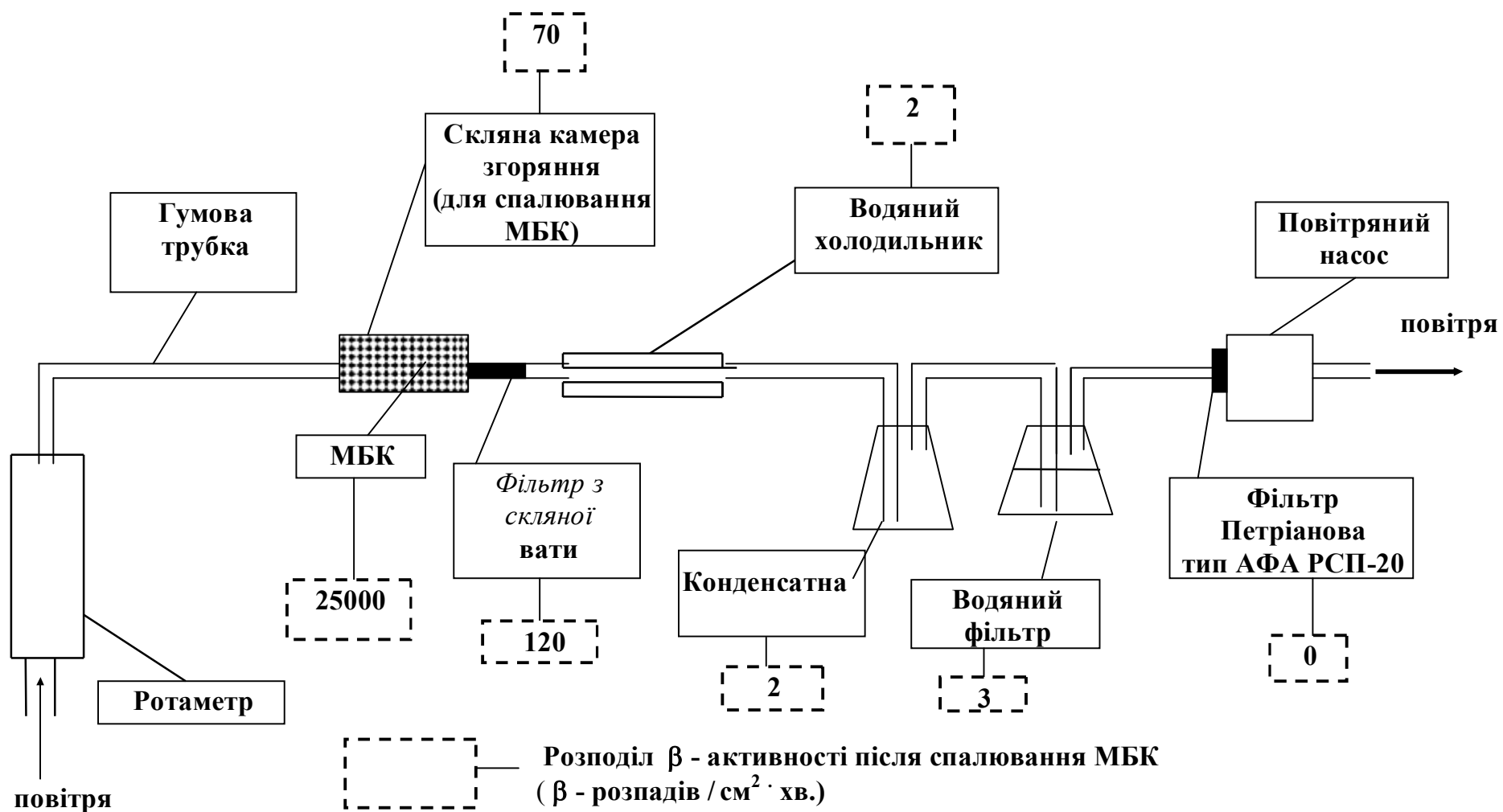


Рис. 6. Схема установки для спалювання МБК та розподіл β -активності в установці

МБК зменшувалась у 2,6 рази, а об'єм – у 3,4 рази. Утилізація спалюванням відпрацьованих радіоактивних гранул МБК дозволяє вирішити ключову проблему – зменшення об'ємів твердих радіоактивних відходів, що утворюються при очистці РРВ.

Технологія очистки металовмісних стоків на прикладі Київський заводу комунального машинобудування (“Коммаш”). Стоки цеху гальванічних покриттів заводу є типовими, - вони містять хромати у концентрації ≈ 50 мг/л Cr(VI) , залишкові концентрації Zn^{2+} та Cu^{2+} та ін., рН стічної води - 6,8-7,2, $Eh = +450 \dots +470$ мВ. Добовий об'єм стоків - 18 м^3 . Досліди проводили у “Експериментальній пілотній установці” (ЕПУ), що складалась з 3 модулів (рис. 7). Модуль-I та модуль-II - це контейнери об'ємом по 10 л, що розділені на 10 секцій перегородками з отворами. Модуль-I містив гранули МБК вагою ≈ 5 кг та об'ємом 10 л. В модулі-I мікроорганізми очищували стік від металів: відновлювали CrO_4^{2-} до нерозчинного Cr(OH)_3 та поглинали Zn^{2+} , Cu^{2+} . Модуль-II – це аеротенк, що містив інертні носії “капроновий дріт”, на яких іммобілізовані мікроорганізми активного мулу аеротенку. В модуль-II подавалося повітря. Модуль-II очищував стоки від органічних забруднень та суспендованих мікроорганізмів. Модуль-III - це циліндр з піском, призначений для поглинання мікроорганізмів у випадку їх залпового викиду з модулю-II. ЕПУ оздоблена допоміжним обладнанням (насос для подачі стоку, блок терморегуляції, повітряний компресор, та ін.). Стік в ЕПУ очищували у стаціонарному і проточному режимах. У стаціонарному режимі мікроорганізми адаптувались до токсичного стоку. У проточному режимі ЕПУ очищувала стік від хроматів, органічних сполук та мікробних клітин до показників “технічно чиста вода”. Базовими технологічними параметрами роботи ЕПУ правили *редокс-потенціал (Eh)* та “*координата аналітичного нуля*” (КАН) (рис. 7, 8). КАН – це така лінійна координата по довжині модуля, у якій концентрація хроматів або органічних речовин дорівнює аналітичному нулю.

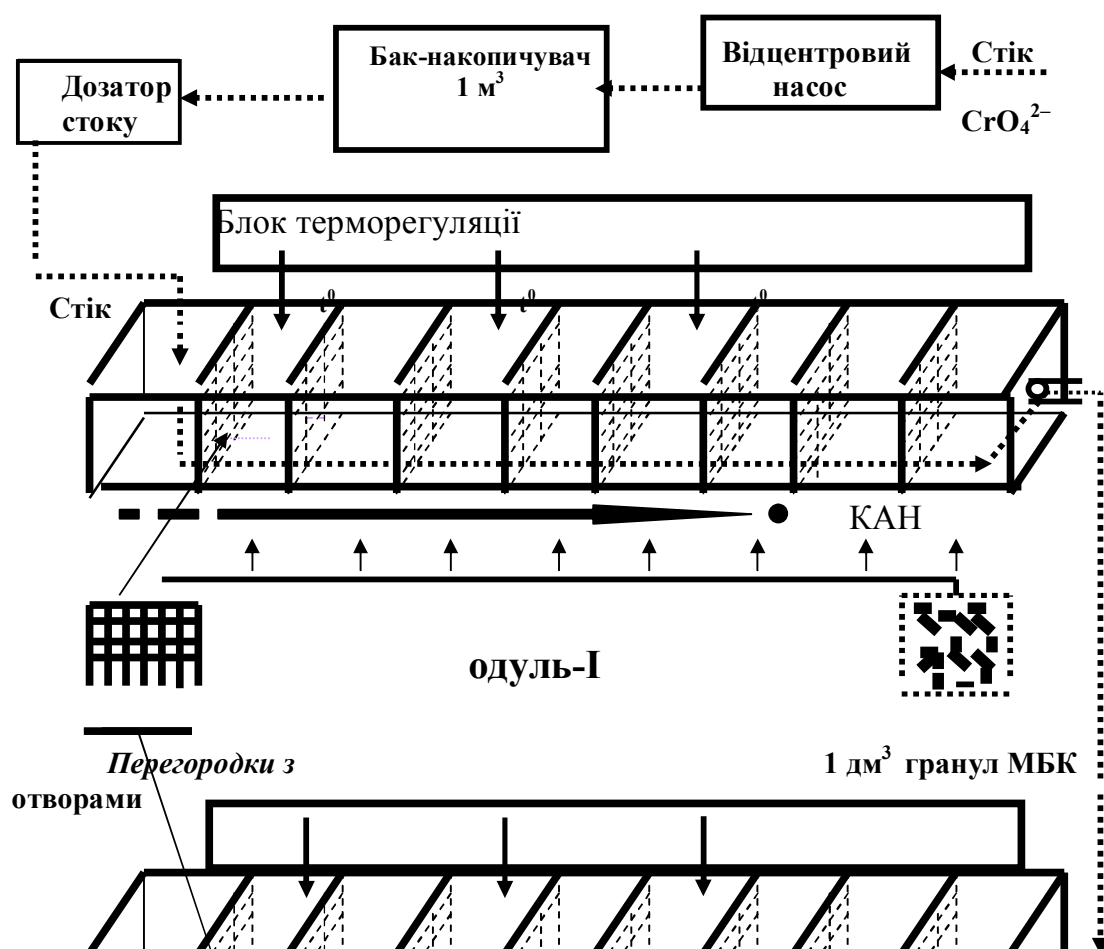
Показник Eh правив надійним кількісним технологічним параметром очищення хроматвмісних стоків. При $Eh < -100$ мВ хромати у точці виміру були відсутні. Висока чисельність як аеробних, так і анаеробних мікроорганізмів ($n \cdot 10^7$ - $n \cdot 10^8$ кл./г МБК) зумовлювала швидке зниження в середовищі Eh , та відповідно - ефективне очищення гальванічних стоків від хроматів.

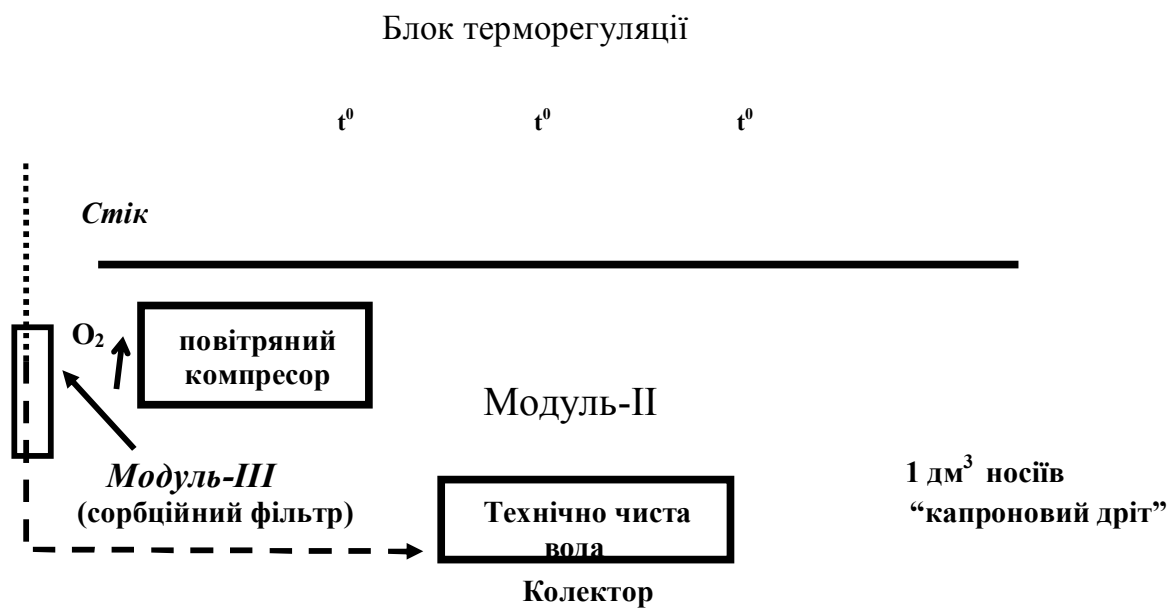
Технологія характеризується високими показниками очистки: інтегральна біокаталітична та сорбційна ємність МБК по хроматам становить $500 \text{ мг } \text{CrO}_4^{2-}/1 \text{ г АСМ}$ (абсолютно сухої маси) гранульованого МБК.

Технологічні та економічні показники очистки. Головні показники очистки стоків в ЕПУ у порівнянні з аналоговою промисловою установкою (ПУ), що діє на заводі “Коммаш”, представлені у табл. 9. Технологічні та економічні показники свідчать про безумовну перевагу розробленої нами технологію знешкодження металовмісних стоків на основі гранульованого мікробного біокаталізатора.

Очищений стік на виході з модулю-ІІ та водопровідна вода мали однакові показники (за перманганатним методом), що підтверджує високу ступінь очистки стоку від органічних сполук та суспендованих мікроорганізмів.

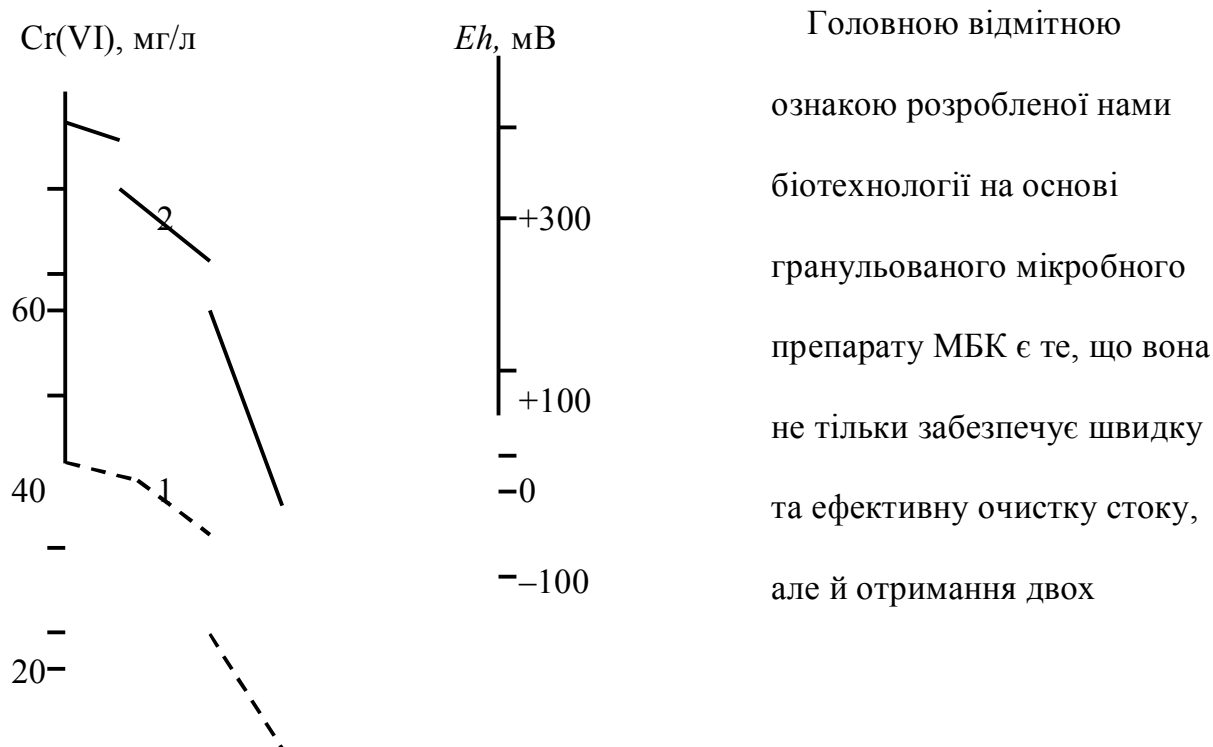
Відпрацьовані та висушені гранули, що вкриті шаром аморфного гідратованого $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, утилізували спалюванням з отриманням зольного концентрату Cr_2O_3 який має абразивні властивості (фактично – препарат для шліфування).





Примітки: КАН - "координата аналітичного нуля" - лінійна координата по довжині модуля, в якій концентрація CrO_4^{2-} дорівнює аналітичному нулю (за дифенілкарбазидом)

Рис. 7. Схема експериментальної пілотної установки (ЕПУ) для очистки хроматвмісних стоків на заводі "Коммаш".



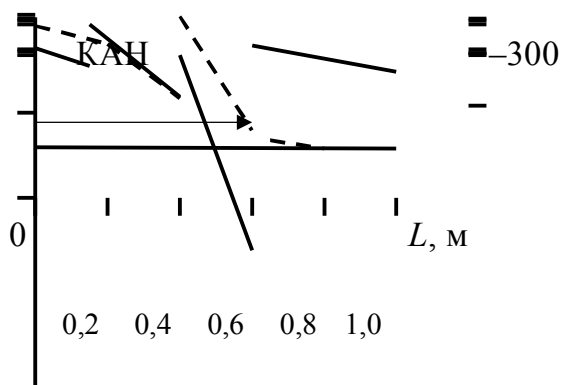


Рис. 8. Динаміка зниження редокс-потенціалу (Eh) та концентрації $Cr(VI)$ у ЕПУ.

1- $Cr(VI)$, 2- Eh , L -довжина ЕПУ. КАН – “координата аналітичного нуля” – координата по довжині очисної споруди, у якій концентрація хроматів дорівнює аналітичному нулю

товарних продуктів:
– концентрату хрому (Cr_2O_3 з абразивними властивостями);
– технічно чистої води, яка може бути багаторазово використаною у виробничому циклі замкненого водопостачання.

Таблиця 9

Технологічні та економічні показники очистки хроматвмісного стоку у промисловій установці (ПУ) та експериментальній пілотній установці (ЕПУ).

	Порівняльні показники роботи ПУ ¹ та ЕПУ ²		Висновок
	ПУ	ЕПУ	
	2	3	4
	Концентрація біомаси у очисній споруді		Концентрація

	5 – 6 г/л	500 г/л	біомаси в ЕПУ в ≈100 разів більша, ніж в ПУ.
	Об'єм установки для очистки 18 м ³ стоку/добу		Необхідний робочий об'єм ЕПУ в 33 рази менший, ніж ПУ.
	30 м ³	0,9 м ³	
	Коефіцієнт потоку <i>K</i>		<i>K</i> для ЕПУ в 33 рази вищий, ніж для ПУ.
	<i>K</i> _{ПУ} = 0,6	<i>K</i> _{ПУ} = 20,0	
	Носії для іммобілізації мікроорганізмів		Простота та економічність ЕПУ у порівнянні з ПУ: технологічне спрощення: усунення 4 операцій; економія коштів на виконання технологічних
	Виготовлення та монтаж йоржів (5000 грн.), заміна 1 раз на 3 роки (3000 грн.). Всього – 8000 грн.	Носій “капроновий дріт” є відходом	
	Утилізація носіїв		
	Утилізація відпрацьованих носіїв (1 раз/3 роки) – 1000 грн.	Не потребує	
	Додаткове внесення мікробної біомаси для відновлення CrO ₄ ²⁻		

	3 м ³ активного мулу аеротенку, 1 раз/ рік, - 1000 грн.	Не потребує	операцій.
	2	3	4
	Попередня підготовка стоку		Повна автономність ЕПУ у роботі та відсутність витрат на попередню підготовку стоку.
	Підготовка стоку (18 м ³ щодобово): внесення (кг/м ³): лактат Са- 0,3, K ₂ HPO ₄ -0,8, NH ₄ Cl-0,2, MgSO ₄ -0,2. Вартість-5 грн./м ³ , коригування рН.	Не потребує	
	Утилізація відпрацьованої біомаси		Рентабельність ЕПУ, отримання цінних продуктів: концентрату хрому та технічно чистої оборотної води.
	Поховання шламу (суміш відпрацьованої біомаси та Cr(OH) ₃) - 1000 грн./рік.	Гранули спалюють з отриманням концентрату хрому	
	Якість очищеного стоку		Збитковість ПУ: витрати на постачання технічної води та поховання біомаси
	Стік, що придатний для скиду у каналізацію	Технічно чиста вода для виробничого циклу	

1	Загальна вартість виготовлення установки		ЕПУ в 5 разів дешевша, ніж ПУ
	100 тис. грн.	20 тис. грн.	

Примітки: 1 – ПУ – діюча промислова установка з робочим об’ємом 30 м³ на заводі “Коммаш”. 2 – ЕПУ – експериментальна пілотна установка з МБК об’ємом 10 л. 3.

$K = V_1 / V_2$, де V_1 - добовий об’єм очищеного стоку, а V_2 – об’єм очисної споруди.

Таким чином, експериментальна пілотна установка, що діє на основі гранульованого мікробного препарату МБК, забезпечує високоефективну очистку промислового стоку від хроматів, супутніх металів і органічних забруднень та отримання цінних продуктів – технічно чистої води та концентрату хрому (Cr₂O₃).

Висновки

1. Розроблено узагальнюючу концепцію прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами періодичної системи елементів Д.І. Менделєєва, яка є підґрунтям для створення нових універсальних біотехнологій очищення промислових стоків від широкого спектру металів та радіонуклідів. Концепція включає положення про неспецифічне мікробне відновлення і акумуляцію металів та радіонуклідів як окремими культурами (штамами), так і синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями.
2. Мікробне відновлення металів впливає з термодинамічних властивостей бінарної окисно-відновної системи: донорної (метаболічно активні мікроорганізми) та акцепторної (окислена форма металу). Мікроорганізми відновлюють тільки ті метали, стандартний потенціал відновлення яких (E_o') знаходиться в межах термодинамічної стійкості води ($+814 > E_o' > -414$ мВ). Акумуляція металів

мікроорганізмами здійснюється внаслідок стереохімічної аналогії металів (Hg^{2+} , Cu^{2+} , CrO_4^{2-} та ін.) та макроелементів (Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} та ін.). Відновлення і акумуляцію металів здійснює широкий спектр мікроорганізмів, які неадаптовані до токсичних металів та радіонуклідів.

3. Положення про інтегральні механізми акумуляції металів і радіонуклідів мікробними синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями (далі відповідно – асоціаціями та угрупованнями) базується на таких складових:

- метаболічно активні мікроорганізми асоціацій та угруповань акумулюють будь-які метали;
- для акумуляції металів необхідний енергетичний субстрат (донор вуглецю та енергії);
- акумуляція металів відбувається у всіх фазах метаболічної активності асоціацій та угруповань за рахунок одночасної реалізації багатьох незалежних механізмів;
- збільшення кількості видів мікроорганізмів з різними структурними та функціональними властивостями приводить до інтеграції механізмів концентрування металів, тому угруповання, що складаються з двох або більше асоціацій, з максимальною ефективністю накопичують широкий спектр металів та радіонуклідів у будь-якому концентраційному діапазоні.

4. Розроблено узагальнену теоретичну модель, яка визначає послідовність механізмів вилучення металів з розчинів асоціаціями та угрупованнями у фазах А (“адаптивної”), В (“активного метаболізму”), та С (“уповільненого метаболізму”). У цих фазах метали акумулюються за рахунок як фізико-хімічних (сорбція клітинами, осадження метаболітами та ін.) так і біологічних (відновлення та осадження металів, активний транспорт в клітини, та ін.) механізмів. Модель експериментально підтверджена на широкому спектрі металів (19 елементів) та радіонуклідів (14 ізотопів).

5. Вперше для біотехнологій очистки промислових стоків запропоновані твердофазні відновники Fe^0 ($Eh = -480$ мВ) та амальгама Zn^0 ($Eh = -700$ мВ), які дозволяють вирощувати як чисті культури облігатно-анаеробних мікроорганізмів, так і анаеробні синтрофні асоціації без будь-яких засобів захисту середовища від O_2 . Твердофазні відновники є носіями для іммобілізації клітин, забезпечують тривалу стабілізацію редокс-потенціалу в розчинах на рівні $-400 \dots -450$ мВ та стимулюють розвиток облігатних анаеробів молекулярним воднем, що утворюється при відновленні H^+ (активація гідрогеназних систем).

6. На базі теоретичної концепції розроблені нові мікробні препарати “мікробний біокаталізатор” (МБК) та “змішані мікробні угруповання” (ЗМУ), які забезпечують ефективну очистку модельних і промислових стоків від широкого спектру токсичних металів (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , CrO_4^{2-} і т.д.), радіонуклідів (^{28}Na , ^{83}Rb , 134 , ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{60}Co , ^{238}U , ^{239}Pu , ^{241}Am та ін.) та органічних забруднень. Препарати представляють собою стійкі у воді

гранули, що складаються з живих мікроорганізмів і необхідних для них поживних речовин. Відмітними ознаками препаратів є дискретність, універсальність, повна автономність, технологічність, економічність, ефективність, і внаслідок цього – ліквідність технологій на їх основі.

7. На основі МБК розроблена та впроваджена біотехнологія очищення рідких радіоактивних відходів (РРВ) Спецкомбінату “Радон” від ^{22}Na , ^{137}Cs , ^{90}Sr та ^{60}Co в проточній дослідно-промисловій установці касетного типу, яка суттєво зменшує загальну активність РРВ та забезпечує значну економію іонообмінних смол для доочищення РРВ.

8. В Інституті ядерних досліджень НАН України з позитивним результатом випробувано біотехнологію очищення РРВ ядерного реактора від ^{134}Cs , ^{137}Cs та ^{60}Co . В проточній вертикальній дослідно-промисловій установці РРВ очищені до встановлених нормативами НРБ 76/78 показників.

9. Розроблено і випробувано безпечний та простий метод утилізації спалюванням відпрацьованих радіоактивних гранул МБК. Спалювання гранул не призводить до виносу радіоактивних продуктів за межі установки. Маса і об’єм гранул при їх спалюванні зменшуються в 3-4 рази, а зольний концентрат не містить вільної та зв’язаної води. Такий метод утилізації радіоактивної біомаси зумовлює можливість широкого впровадження біотехнологій знешкодження РРВ.

10. На основі МБК на Київському заводі комунального машинобудування випробувано біотехнологію очищення гальванічних стоків від хроматів та органічних забруднень до стану “технічно чиста вода”. Розроблено та випробувано дослідно-промислову експериментальну пілотну установку (ЕПУ), що має у декілька разів кращі технологічні та економічні показники, ніж сучасні типові мікробні технології знешкодження гальванічних стоків. Показано можливість отримання цінного продукту - зольного концентрату Cr_2O_3 з абразивними властивостями за рахунок зневоднювання аморфного гідратованого $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ при спалюванні відпрацьованих в ЕПУ гранул.

11. Розроблені нові біотехнології здатні забезпечити не тільки ефективне

очищення металовмісних промислових стоків та РРВ, але й отримання таких товарних

продуктів, як концентрат металів та технічно чиста вода для замкненого циклу

водопостачання підприємств. Результати випробування мікробних препаратів та

біотехнологій свідчать про перспективність їх широкого впровадження на промислових

підприємствах України.

Основні публікації за темою дисертації

1. *Таширов А.Б.* Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов. / Микробиол. журн. – 1994. – **56**, № 6. – С. 76-88.
2. *Таширов А.Б.* Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Микробная аккумуляция металлов, обусловленная их стереохимической аналогией с макроэлементами. // Микробиол. журн. - 1994. – **56**, № 6. - с.89-100.
3. *Таширов А.Б.* Взаимодействие микроорганизмов с металлами // Микробиол. журн.. - 1995. - **57**, № 2. - С. 95 – 104.
4. *Таширов А.Б.* Концепция интегральных механизмов аккумуляции металлов синтрофными микробными ассоциациями // Микробиол. журн. – 1999. – **61**, № 5. – С. 78 – 84.
5. *Таширов А.Б.* Аккумуляция урана, плутония и америция микробным биосорбентом // Микробиол. журн. - 2000. - **62**, № 6. - С. 51-56
6. *Таширов А.Б.* Иммобилизация тяжелых металлов анаэробной культурой *Clostridium lituseburense* // Вісник ОНУ –2001. – **6**, вип. 4. – С. 301 – 304.
7. *Таширов О.Б.* Взаємодія мікроорганізмів зі сполуками міді// Агроекологічний журн. – 2004. - № 1.- С. 42-46.
8. *Таширов А.Б.* Способ стерилизации титана(III) автоклавированием в бескислородной атмосфере // Микробиология. - 1988. - **57**, N 1.– С. 159-161.
9. *Андреюк Е.И., Таширов А.Б.* Восстановление молибдена(VI) музейными культурами *Escherichia coli* и *Clostridium lituseburense* // Доп. НАН України. - 2003. - № 2. - С. 165-171. (*Таширов О. Б.* – розробка концепції, планування та постановка експерименту; *Андреюк К. І.* – наукова консультація).
10. *Андреюк К.І., Таширов О.Б.* Мікробне відновлення заліза // Доп. НАН України. – 2004. - № 2. - С. 166-171. (*Таширов О. Б.* – розробка концепції, планування та постановка експерименту; *Андреюк К. І.* – наукова консультація).
11. *Андреюк Е.И., Таширов А.Б., Смалько П.Я.* Прогнозирование взаимодействия микроорганизмов с соединениями хрома на основе термодинамических расчетов // Доп. НАН України. - 2003. - № 1. - С. 149-156. (*Таширов О. Б.* – розробка концепції, планування та постановка експерименту; *Смалько П. Я.* – аналіз наукової літератури; *Андреюк К. І.* – наукова консультація).
12. *Андреюк Е.И., Таширов А.Б., Смалько П.Я.* Микробное восстановление соединений ванадия // Доп. НАН України. - 2003. - № 3. - С. 162-169. (*Таширов О. Б.* – розробка концепції, планування та постановка експерименту; *Смалько П. Я.* – аналіз наукової літератури; *Андреюк К. І.* – наукова консультація).
13. *Таширов А.Б., Данько Я.Н., Чернышенко Д.В.* Техника выделения изолированных колоний анаэробных бактерий во флаконах // Микробиол. журн.– 1988 – 50, № 4. - С. 89-90. (*Таширов О. Б.* – розробка концепції, планування та постановка експерименту; – *Чернышенко Д. В.* - аналіз наукової літератури; / *Данько Я. Н.* – технічна допомога).
14. *Таширов А.Б., Радченко О.С., Данько Я.М., Чернышенко Д.В., Гвоздяк П.И.* Железо(II) как восстановитель для культивирования анаэробных микроорганизмов// Микробиология. - 1989. - 58, N 5. - С. 854 – 857. (*Таширов О. Б.* – розробка концепції, планування та постановка експерименту; *Радченко О.С.* - аналіз наукової літератури; . *Данько Я. Н.* – *Чернышенко Д. В.* – технічна допомога, *Гвоздяк П.І.* – наукова консультація).

15. Чернышенко Д.В., Данько Я.Н., Таширев А.Б., Радченко О.С., Ястремская Л.С. Культиватор для изучения ростовых процессов анаэробных микроорганизмов // Микробиол. журн. - 1990. - 52, N 6. - С. 90 - 92. (Таширев О.Б. та Чернышенко Д.В. – розробка концепції та виготовлення культиватору, Данько Я.М.- виготовлення вимірювальних електродів, Радченко О.С., та Ястремская Л.С. - аналіз наукової літератури).
16. Радченко О.С., Таширев А.Б. Роль сульфатвосстанавливающих бактерий в анаэробной очистке сточных вод // Химия и технол. воды. - 1991. - **13**, N 5. - С.456 - 467. (Радченко О.С. та Таширев О.Б. – спільне написання статті).
17. Таширев А.Б., Радченко О.С., Галингер Э.В. Рост *Escherichia coli* в сильно восстановленной среде // Химия и технол. воды. - 1992. - 14, № 6. - С. 458-464. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Радченко О.С., - технічна допомога при підготовці та при виконанні експерименту, Галингер Е.В. – консультації з електрохімії).
18. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф., Самчук А.И. Экспериментальное обоснование теоретической модели аккумуляции металлов микробным сорбентом на примере ртути, ванадия и лития // Микробиол. журн. - 1997. - **59**, N 3. - С. 79 - 85. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Смирнова Г.Ф. - технічна допомога при підготовці та при виконанні експерименту, Самчук А. І. – аналітичне визначення металів).
19. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф., Яновер С.Б., Самчук А.И. Аккумуляция тяжелых металлов микробным сорбентом // Микробиол. журн.– 1997 – **59**, № 3. С. 70-79. (Таширев О.Б.- розробка концепції, планування та постановка експерименту; Смирнова Г.Ф., Яновер С.Б., - технічна допомога при підготовці та при виконанні експерименту, Самчук А. І. – аналітичне визначення металів).
20. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф., Самчук А.И. Аккумуляция ртути(II) и ванадия(V) микробным сорбентом в широком концентрационном диапазоне. // Микробиол. журн. - 1998.-**60**.-№ 1.- С.64-69. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Смирнова Г.Ф. - технічна допомога при підготовці та при виконанні експерименту, Самчук А. І. – аналітичне визначення металів).
21. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф. Аккумуляция металлов синтрофными ассоциациями микроорганизмов // Микробиол. журн. -1999. -**61**.-№ 6.-С.58-65. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Смирнова Г.Ф. - технічна допомога при виконанні експерименту).
22. Таширев А. Б., Шевель В.Н. Аккумуляция радионуклидов микробным сорбентом // Микробиол. журн. – 1998. – **60**. - № 2.- С. 96 – 104. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Шевель В.Н. - технічна допомога при виконанні експерименту та аналітичне визначення радіонуклідів).
23. Таширев А.Б., Шевель В.М. Извлечение “смешанными микробными сообществами” широкого спектра металлов из сточных вод г. Киева // Микробиол. журн. – 2004 – **66**. - № 5. - С. 80 - 86. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Шевель В.М. - аналітичне визначення металів).
24. Таширев А.Б., Шевель В.Н. Микробная технология очистки радиоактивных сточных вод // Проблемы Чернобиля, Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції "Об'єкт "Укриття". 15 років: минуле, сучасне, майбутнє". Чорнобиль,

- 2002, 27-30 листопада, частина I, № 10, 163-169. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Шевель В.М. - технічна допомога при виконанні експерименту та аналітичне визначення радіонуклідів).
25. Таширев А.Б., Шевель В.Н. Аккумуляция широкого спектра радионуклидов гранулированным микробным биокатализатором // Проблемы Чернобиля, Материали IV Міжнародної науково-практичної конференції "Об'єкт "Укриття". 15 років: минуле, сучасне, майбутнє". Чорнобиль, 2002, 27-30 листопада, частина I, № 10, 336-343. (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Шевель В.М. - технічна допомога та аналітичне визначення радіонуклідів).
26. Пат. 10809 UA, МПК⁵ C02 F 1/28, 3/34; G21 F9/18. Спосіб очистки водних розчинів від іонів металів біомасою мікроорганізмів / Таширев О.Б., Шевель В.М. Опубл. 26.02.1999, Бюл. №1 (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Шевель В.Н. - технічна допомога при виконанні експерименту та аналітичне визначення радіонуклідів).
27. Пат. 50585A UA, МПК 7C22B3/00, C02F1/00. Спосіб вилучення широкого спектру металів з водних розчинів біомасою змішаних мікробних угруповань / Таширев О.Б., Таширева Г.О. – Опубл. 15.10.2002, Бюл. № 70 (Таширев О. Б. – розробка концепції, планування та постановка експерименту; Таширева Г. О. - технічна допомога при виконанні експерименту та аналітичне визначення металів).

Таширев Олександр Борисович

Біотехнології очищення промислових стічних вод на основі термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами.

Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. Національний університет харчових технологій Міністерства освіти та науки України. Київ, 2005

В дисертації розроблено узагальнену концепцію прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами, яка дає можливість передбачити та реалізувати будь-який метаболічний шлях взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами періодичної системи елементів Д.І. Менделєєва.

У відповідності до термодинамічних розрахунків, мікроорганізми відновлюють тільки ті метали, стандартний потенціал відновлення яких (E_o') знаходиться в межах термодинамічної стійкості води ($+814 > E_o' > -414$ мВ). До неспецифічного відновлення металів (Cu(II), V(V), Cr(VI), Mo(VI) та Fe(III)) здатні музейні культури та мікробні синтрофні асоціації ("активний мул аеротенку", "зброджений осад метантенку", та ін.). Неспецифічна акумуляція металів мікроорганізмами базується на такому положенні: кожний метал (Hg^{2+} , Cu^{2+} , CrO_4^{2-} та ін.) є стереохімічний аналог певного "макроелементу" (Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} та ін.), і тому метал-акцепторні та транспортні системи мікроорганізмів

“помиляються”, що призводить до накопичення металів в клітинах.

Наявність у складі кожної синтрофної асоціації значної кількості видів мікроорганізмів з різними структурними та функціональними (у тому числі - метаболічними) властивостями приводить до інтеграції фізико-хімічних та біологічних механізмів накопичення металів мікроорганізмами. Тому такі асоціації ефективно вилучають з водних розчинів широкий спектр токсичних металів (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , CrO_4^{2-} , MoO_4^{2-} , WO_4^{2-} , VO_3^-) та радіонуклідів (^{28}Na , ^{40}K , ^{83}Rb , ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{140}La , ^{144}Ce , ^{238}U , ^{239}Pu , ^{241}Am , ^{51}Cr , ^{54}Mn та ^{60}Co). Змішані мікробні угруповання (ЗМУ), до складу яких входять дві або більше мікробних синтрофних асоціацій, здатні до більш ефективного накопичення металів, ніж окремі асоціації. Перевагою ЗМУ у порівнянні з одною асоціацією, є розширення спектру доступних для мікроорганізмів джерел вуглецю та енергії, а також збільшення кількісного та якісного складу мікроорганізмів, які беруть участь у вилученні важких металів та радіонуклідів з водних розчинів.

На основі теоретичної концепції розроблені принципово нові ефективні технології очищення промислових стоків. Створено універсальні мікробні гранульовані препарати “мікробний біокаталізатор” (МБК) та “змішані мікробні угруповання” (ЗМУ), які призначені для очистки промислових стічних вод від широкого спектру металів та радіонуклідів, а також органічних сполук. Препарати очищують стоки від металів у великому концентраційному діапазоні, – від 1,0 мг/л до 10000 мг/л. Розроблені технології забезпечують не тільки ефективну очистку стічних вод від металів, але й отримання коштовних продуктів, наприклад, концентрату металу та технічно чистої оборотної води. Технології на основі препаратів пройшли випробування з позитивним результатом на Спецкомбінаті “Радон”, атомному реакторі Інституту ядерних досліджень НАН України (очистка рідких радіоактивних відходів) та Київському заводі комунального машинобудування “Коммаш” (очистка хроматвмісних стічних вод до показників “технічно чиста вода”). Властивості мікробних препаратів та результати їх апробації свідчать про перспективність широкого впровадження розроблених нами технологій на діючих промислових підприємствах.

Таширев Александр Борисович

Биотехнологии очистки промышленных сточных вод на основе термодинамического прогнозирования взаимодействия микроорганизмов с металлами и радионуклидами.

Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. Национальный университет пищевых технологий Министерства образования и науки Украины. Киев, 2005

В диссертации разработана обобщенная концепция прогнозирования взаимодействия микроорганизмов с металлами, которая дает возможность предусмотреть и реализовать любой метаболический путь взаимодействия микроорганизмов с металлами и радионуклидами периодической системы элементов Д.И. Менделеева. В

основу концепции вошли следующие положения: положение о неспецифическом микробном восстановлении металлов, положение о неспецифичной аккумуляции микроорганизмами металлов и радионуклидов вследствие их стереохимической аналогии с «макроэлементами», положение об интегральных механизмах аккумуляции металлов и радионуклидов микробными синтрофными ассоциациями и смешанными микробными сообществами.

В соответствии с термодинамическими расчетами, микроорганизмы восстанавливают только те металлы, стандартный потенциал восстановления которых (E_o') находится в пределах термодинамической устойчивости воды ($+814 > E_o' > -414$ мВ). К неспецифическому восстановлению металлов (Cu(II), V(V), Cr(VI), Mo(VI) и Fe(III)) способны музейные культуры и микробные синтрофные ассоциации («активный ил аэротенка», «сброженный осадок метантенка», и др.). Восстановление металлов осуществляет широкий спектр музейных культур: аэробные (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *Corynebacterium ammoniogenes*, *Rhodococcus rhodochrous*, *Micrococcus luteus*, *Brevibacterium linens*), факультативно-анаэробные (*Escherichia coli*, *Pseudomonas denitrificans*, *P. aeruginosa*) и облигатно-анаэробные (*Clostridium lituseburense*, *C. butyricum*, *C. acetobutylicum*, *Desulfovibrio desulfuricans*) микроорганизмы. Неспецифическая аккумуляция металлов микроорганизмами основывается на следующем положении: каждый металл (Hg^{2+} , Cu^{2+} , CrO_4^{2-} и др.) является стереохимическим аналогом соответствующего «макроэлемента» (Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} и др.), поэтому металл-акцепторные и транспортные системы микроорганизмов «ошибаются», что приводит к накоплению металлов в клетках.

Наличие в составе любой синтрофной ассоциации значительного количества видов микроорганизмов с различными структурными и функциональными (метаболическими) свойствами приводит к интеграции физико-химических и биологических механизмов накопления металлов микроорганизмами, которые определяют широкую неспецифичность этого процесса. Поэтому синтрофные ассоциации «активный ил аэротенка», «сброженный осадок метантенка» и др. эффективно извлекают из водных растворов широкий спектр токсичных металлов (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , CrO_4^{2-} , MoO_4^{2-} , WO_4^{2-} , VO_3^-) и радионуклидов (^{28}Na , ^{40}K , ^{83}Rb , ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{140}La , ^{144}Ce , ^{238}U , ^{239}Pu , ^{241}Am , ^{51}Cr , ^{54}Mn и ^{60}Co). Смешанные микробные сообщества (СМС), в состав которых входят две или более микробных синтрофных ассоциаций, способны к более эффективному накоплению металлов, чем одна ассоциация. Преимуществом СМС по сравнению с одной ассоциацией является существенное расширение спектра доступных для микроорганизмов источников углерода и энергии, а также увеличение количественного и качественного состава микроорганизмов, принимающих участие в извлечении тяжелых металлов и радионуклидов из водных растворов.

На основе теоретической концепции разработаны принципиально новые эффективные технологии очистки металлосодержащих водных растворов. Созданы универсальные микробные гранулированные препараты «микробный биокатализатор» (МБК) и «смешанные микробные сообщества» (СМС), предназначенные для очистки промышленных сточных вод от широкого спектра металлов и радионуклидов, а также органических соединений. Препарат МБК предназначен для очистки сточных вод от металлов в относительно большом концентрационном диапазоне от 10 мг/л до 10000 мг/л.

Препарат СМС предназначен для глубокой доочистки сточных вод от исчезающе малых концентраций металлов (1,0 мкг/л...10 мг/л). Разработанные технологии обеспечивают не только эффективную очистку сточных вод от металлов, но и получение ценных продуктов, например, концентрата металла и технически чистой оборотной воды. Технологии на основе препаратов прошли с положительным результатом опытно-промышленные испытания на Спецкомбинате “Радон”, атомном реакторе Института ядерных исследований НАН Украины (очистка жидких радиоактивных отходов) и Киевском заводе коммунального машиностроения (очистка хроматсодержащих сточных вод до показателей “технически чистая вода”). Свойства микробных препаратов и результаты их опытно-промышленных испытаний свидетельствуют о перспективности широкого внедрения разработанных нами технологий на действующих промышленных предприятиях.

Summary

Thesis for a doctor's degree by speciality 03.00.20 – biotechnology. – The National University of Food Technology by Ministry of Science and Education.

The thesis is devoted to developing of theoretical basis and creating new high – efficiency microbial biotechnologies of wastewater purification. The generalising concept of forecasting of interaction of microorganisms with metals of periodic system of chemical elements is developed, and which is background for development of new universal biotechnologies of purification of industrial wastewaters from a wide spectrum of metals and radionuclides. The components of concept are:

- non-specific microbial reduction of metals (cation, anion forms and complex compounds);

- non-specific microbial accumulation metal ions of owing to their stereochemical analogies with «macroelements»;

- integrated mechanisms of accumulation of metals and radionuclides by microbial syntrophic associations and mixed microbial communities.

Non-specific microbial reduction of metals follows from thermodynamic properties of the binary redox system: donor (metabolically active microorganisms) and acceptor (oxidised the form of metal). The microorganisms reduce only those metals, which standard redox potential (E_o') is in borders of thermodynamic stability of water ($+814 > E_o' > -414$ mV).

Non-specific accumulation by microorganisms of metals owing to their stereochemical analogies with «macroelements». If to compare of sizes ion radiuses of metals (Hg^{2+} , Cu^{2+} , CrO_4^{2-} etc.) and «macroelements» (Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} etc.) it would be obvious, that each metal is stereochemical analogue certain macroelement and consequently metal is - acceptor and the transport systems of microorganisms «are mistaken» and non-specific accumulate metals in microbial cells.

Named concept gives the opportunity to prove theoretically and to develop effective microbial technology of purification of industrial wastewaters from a wide spectrum of metals and radionuclides. On the basis of the concept developed and created new microbial preparations «microbial biocatalyst» (MBC) and «mixed microbial communities» (MMC), that provide effective purification of modelling and industrial

wastewaters from a wide spectrum of metals and radionuclides, and also organic pollutants. MBC purifies on 98,5-99,9 % heavy metals (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , CrO_4^{2-} etc.) in a range 0,006 - 10000 ppm. MBC and MMC reduce activity liquid radioactive drains on ^{28}Na , ^{40}K , ^{83}Rb , ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{140}La , ^{144}Ce , ^{51}Cr , ^{54}Mn and ^{60}Co on 2-6 orders; purifies from ^{238}U , ^{239}Pu and ^{241}Am on 99,6-99,9 %. The working basis of preparations is granules that are stable in water and which consist of alive microorganisms and nutritious substances, necessary for them. The distinctive attributes of preparations are universality, complete autonomy, and adaptability to manufacture, profitability, efficiency, and liquidity of technologies on their basis.