

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

**СТАБНІКОВ ВІКТОР ПЕТРОВИЧ**

УДК 628.38

РОЗРОБКА СПОСОБУ АНАЕРОБНОГО ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД З ВИКОРИСТАННЯМ  
ЗАЛІЗОВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ

03.00.20 – Біотехнологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата  
технічних наук

Київ – 2006

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному університеті харчових технологій  
Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: кандидат технічних наук, доцент,  
**Решетняк Людмила Расулівна**  
Національний університет харчових технологій

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор,  
**Циганков Сергій Петрович**  
Інститут харчової хімії і технологій НАН України та  
Міністерства аграрної політики України,  
заступник директора з питань науки і нової техніки

кандидат технічних наук,  
**Кошель Михайло Іванович**  
Український науково-дослідний інститут спирту і  
біотехнології продовольчих продуктів Міністерства аграрної  
політики України, завідувач відділу екології

Провідна установа: Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та  
біотехнології Національного університету “Львівська  
політехніка” Міністерство освіти та науки України, м.Львів

Захист відбудеться: 31 травня 2006 р. о 12 годині на засіданні спеціалізованої  
вченої ради Д 26.058.03 в Національному університеті харчових технологій за  
адресою:

01033, м.Київ-33, вул. Володимирська, 68, корпус А, аудиторія 311

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного університету  
харчових технологій за адресою: 01033, м.Київ-33, вул. Володимирська, 68.

Автореферат розісланий 26 квітня 2006 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради, к.т.н., доцент \_\_\_\_\_ Поводзинський В.М.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Охорона навколишнього природного середовища (довкілля) та забезпечення екологічної безпеки є одними з найважливіших проблем сучасності. У “Національній програмі екологічного оздоровлення басейну Дніпра та поліпшення якості питної води”, прийнятої Верховною Радою України від 27 лютого 1997 року, відмічено, що низька ефективність наявних очисних споруд веде до погіршення стану водних систем. При вирішенні цієї проблеми особливої уваги набувають біотехнологічні способи обробки стічних вод, які можуть забезпечити потрібний рівень очищення, є економічними, і можуть бути застосовані у широкому масштабі. Крім того, використання анаеробних способів очищення стічних вод дає змогу отримувати енергетично цінний біогаз. Розробка нових ефективних способів удосконалення існуючих біотехнологій очищення стічних вод, а також утилізація корисних речовин із стоків з метою їх подальшого застосування відповідає вимогам безпеки довкілля.

Дисертаційна робота присвячена актуальним питанням підвищення якості процесу анаеробного очищення сульфатвмісних та фосфатвмісних стічних вод та видалення, з ціллю використання у народному господарстві як добрива, фосфатів із рідинної фракції анаеробного мулу міських очисних споруд завдяки використанню залізівідновлювальних бактерій та сполук тривалентного заліза.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Основою нових способів очищення стічних вод у даній роботі є біотехнологія, яка є пріоритетним напрямком у розвитку науки і техніки України згідно з документом, прийнятим Радою з питань науки та техніки при Президентові України від 15 січня 1998 року “Про основні пріоритети розвитку науки та науково-технічної політики в Україні та систему державних наукових та науково-технічних програм”. Дисертаційна робота виконана у рамках постанов Верховної Ради України “Основні напрями державної політики України у галузі охорони довкілля, використання природних ресурсів та забезпечення екологічної безпеки” № 1390-XIV від 05.03.1998 та “Про концепцію розвитку водного господарства України” № 188/98 від 14.01.2000, а також відповідно наукового напрямку кафедри біотехнології мікробного синтезу Національного університету харчових технологій “Розробка та удосконалення мікробіологічних та біохімічних процесів в біотехнології та охороні навколишнього середовища”.

**Мета і задачі дослідження.** Метою роботи є розробка способу анаеробного очищення стічних вод з використанням залізівідновлювальних бактерій.

Для досягнення поставленої мети потрібно було вирішити наступні задачі:

- дослідження процесу утворення двовалентного заліза при анаеробному очищенні стічних вод залізівідновлювальними бактеріями;
- пошук дешевого та доступного джерела тривалентного заліза;
- дослідження впливу додавання залізівідновлювальних бактерій та тривалентного заліза на технологічні параметри анаеробного очищення сульфатвмісних стічних вод;

- дослідження впливу додавання залізовідновлювальних бактерій та тривалентного заліза на технологічні параметри анаеробного очищення фосфатвмісних стічних вод;
- визначення можливості видалення фосфату з рідинної фракції анаеробного мулу міських очисних споруд у вигляді фосфат-залізного осаду при застосуванні залізовідновлювальних бактерій та тривалентного заліза;
- дослідження можливості використання фосфат-залізного осаду як фосфорного добрива;
- розробка апаратурно-технологічної схеми процесу видалення фосфату з рідинної фракції анаеробного мулу міських очисних споруд при застосуванні залізовідновлювальних бактерій та тривалентного заліза та рекомендацій щодо використання отриманого фосфат-залізного осаду як добрива.

*Об'єкт дослідження* – анаеробна біотехнологічна система очищення стічних вод.

*Предмет дослідження* – анаеробні способи очищення стічних вод із використанням залізовідновлювальних бактерій при внесенні тривалентного заліза.

***Наукова новизна одержаних результатів.*** В ході проведення роботи:

- розроблено нові біотехнологічні способи очищення сульфатвмісних та фосфатвмісних стічних вод з використанням залізовідновлювальних бактерій та сполук тривалентного заліза;
- уперше запропоновано застосування залізовідновлювальних бактерій для регуляції процесів анаеробного очищення стічних вод;
- показана можливість використання в процесах очищення стічних вод як накопичувальних культур, так і чистих культур залізовідновлювальних бактерій;
- на основі визначення найближчої філогенетичної послідовності нуклеотидів для гену 16S рРНК ізольованих штамів залізовідновлювальних бактерій визначено, що вони є представниками видів *Stenotrophomonas maltophilia* та *Brachymonas denitrificans*. Повна послідовність нуклеотидів гену 16S рРНК для *S. maltophilia* штам ВК та часткова послідовність нуклеотидів гену 16S рРНК для *B. denitrificans* штам МК були депоновані у базі даних Генетичного Банку під номерами АУ641540 та АУ646837 відповідно. Залізовідновлювальна активність *S. maltophilia* та денітрифікуючої бактерії *B. denitrificans* показана уперше;
- показано, що додавання джерел Fe(III) та залізовідновлювальних бактерій в процес анаеробного очищення сульфатвмісних стічних вод покращує видалення загального органічного вуглецю та утворення метану і цей ефект залежить від співвідношенням Fe(III)/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>;
- встановлено за допомогою молекулярних проб, флуоресцентною *in situ* гібридизацією та проточною цитофлуорометрією, що при додаванні залізовідновлювальних бактерій та гідроксиду заліза відбувається зміна співвідношення сульфатвідновлювальних бактерій та метаногенів;
- показана можливість використання залізовідновлювальних бактерій для видалення фосфату при очищенні стічних вод за рахунок відновлення тривалентного заліза до іонів Fe(II), які преципітують фосфат.





послідовності у базі даних Національного центру біотехнологічної інформації використовували пошукову програму BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Для порівняння було обрано послідовності з представників найближчих філогенетичних груп, а також послідовності 16S рРНК з таксонів, що відносяться до різних бактеріальних груп. Філогенетичне дерево було сконструйовано на

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

loch PHYLIP.

Гідроксид заліза (III) готували повільним додаванням 2 М NaOH до 250 мМ розчину FeCl<sub>3</sub>; природними джерелами заліза слугували глина з вмістом заліза 3 – 7% та залізна руда з вмістом заліза 65%. Взаємодію клітин ЗББ з частками Fe(OH)<sub>3</sub> спостерігали за допомогою епіфлуоресцентного мікроскопу BX-FLA-3 та конфокусного лазерного скануючого мікроскопу Fluoview300 (Olympus, Japan) при застосуванні барвників нуклеїнових кислот SYTO 9<sup>TM</sup> та пропідіум йодиду.

Анаеробний процес проводили в лабораторних експериментальних реакторах. Процес проходив при постійній температурі 35°C. Перед початком експерименту реактори продували азотом протягом 5 хвилин. При вивченні впливу заліза на анаеробне очищуванні сульфат- та фосфатвмісних стічних вод процес проводили в закритих гумовими пробками 100 мл пляшках на качалці з 150 об/хв при температурі 25°C у темряві.

Концентрації загального і розчинного Fe(II) визначали фенантроліновим методом. Аналіз концентрації загального органічного вуглецю (ЗОВ) проводили стандартним методом на аналізаторі (Shimadzu, Японія). Концентрацію розчинного фосфату визначали колOMETричним методом на спектрофотометрі UV-1201V (Shimadzu, Japan) при 510 нм. Визначення концентрації сульфату проводили нефелометричним методом. Вміст сульфідів в біогазі та розчині вимірювали за інтенсивністю забарвлення при 660 нм на спектрофотометрі UV-1201V (Shimadzu, Японія). Сухі речовини в мулі визначали висушуванням до постійної маси при 103 – 105°C, органічні речовини – за витратою маси після спалювання зразка при 550°C. ХСК визначали окисленням біхроматом калію, утворення біогазу – волюметричним методом. Вміст метану та двооксиду вуглецю в пробах біогазу визначали на газовому хроматографі (Hewlett Packard, USA). Автофлуоресценцію F<sub>420</sub> вимірювали у супернатанті на люмінесцентному спектрометрі LS 50B (Perkin Elmer, USA).

Для порівняння складу мікробних популяцій підраховували клітини метаногенів, що було помічено олігонуклеотидним зондом Arc915 (5'-GTGCTCCCCCGCCAATTCCT-3') з тетрахлофлуоресцеїном, та

сульфатредукуючих бактерій, що було помічено зондом D687 (5'-UACGGAUUUCACUCCU-3') з Rox, на проточному цитофлуорометрі FACSCalibur (Becton Dickinson, USA).

Досліджували вплив внесення ЗВБ та Fe(III) на процес анаеробного очищення модельних сульфат- та фосфатвмісних стічних вод. Вибір джерела заліза здійснювали при очищенні жировмісних стічних вод. Ефективність застосування накопичувальної та чистої культур ЗВБ визначали при видаленні фосфату із РФАМ міських споруд по очищенню стічних вод.

Дослідження по використанню фосфат-залізного осаду (ФЗО) як добрива проводили при вирощуванні томатів (*Lycopersicon esculantum L.*), перцю чилі (*Casicum annuum L.*) та водного шпинату (*Ipomoea aquatica*).

Усі досліди проводили в трьох та більше повторностях. Статистичну обробку результатів експериментів здійснювали за спеціальними комп'ютерними програмами для персональних ЕОМ.

У третьому розділі „Дослідження застосування тривалентного заліза та залізовідновлювальних бактерій в процесах анаеробного очищення стічних вод” наведені результати та обговорення основних закономірностей процесів анаеробного очищення сульфат- та фосфатвмісних стічних вод при внесенні тривалентного заліза та ЗВБ.

Проведено порівняння застосування гідроксиду тривалентного заліза, залізовмісної глини та залізної руди як джерел Fe(III). Згідно результатам, швидкість утворення Fe(II) і вихід від початкової кількості заліза були нижчими у залізної руди, глина поступалася за швидкістю утворення Fe(II) гідроксиду заліза, однак за вихідом від початкової кількості заліза була рівнозначна. При додаванні залізовмісної глини при анаеробній обробці жировмісних стічних вод у кількості, що відповідала вмісту низьких доз заліза (1-3-х кратні стехіометрично потребуємої кількості), ефективність анаеробного очищення практично не відрізнялася від контролю (без додавання глини), але різко підвищувалася при 4-х кратній дозі. Аналогічно змінювалася і активність метаногенів, що визначалася за інтенсивністю автофлуоресценції коензиму F<sub>420</sub> (рис 1а). Ефективність видалення ХСК у варіанті з 4-х кратною дозою заліза (експеримент) становила 98%, метаноутворення було на 60% вище, ніж в контролі (рис. 1б).

Рис.1. Вплив залізовмісної глини на анаеробне очищення жировмісних стічних вод при внесенні у різних дозах (а) та у 4-х кратній дозі (б).

Досліджували вплив різних концентрацій сульфату на відновлення заліза. Присутність сульфату навіть при його високій концентрації не мало негативного ефекту на кінцеву кількість відновленого Fe(III) (рис. 2). Однак, максимальна швидкість відновлення Fe(III) при високих концентраціях сульфату складала 40–50% від швидкості відновлення Fe(III) у контролі. Інгібуючий ефект високої концентрації сульфату на швидкість утворення Fe(II) може бути результатом конкуренції за донор електронів поміж ЗВБ та сульфатвідновлювальними бактеріями.

Рис. 2. Кількість Fe(II), що утворилося ЗВБ на середовищі з вмістом сульфату натру, г/л: 0 (E1), 0,96 (E2), 4,80 (E3) та 9,60 (E4); К – абіотичний контроль.

Вивчення впливу співвідношення  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  проводилось на прикладі модельних стічних вод рибопереробного виробництва з концентрацією сульфату 2,94 г/л при додаванні залізовідновлювальних бактерій. Молярне співвідношення  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  було 0,06 в контролі, 0,5, 1 та 2 в експериментах. Концентрація сульфідів постійно збільшувалася у контролі та експерименті з співвідношення  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  0,5, але утворення сульфідів не спостерігалось при співвідношенні  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  1 та 2. При молярному співвідношенні  $\text{Fe(III)}/\text{SO}_4^{2-}$  0,06, 0,5, 1 та 2 вміст метану в біогазі був  $25\pm 2$ ,  $41\pm 3$ ,  $55\pm 4$  та  $62\pm 3\%$  об. відповідно. Вірогідно, додавання залізу поліпшує метаногенез оскільки відновлення Fe(III) зменшує відновлення сульфату та утворює Fe(II), який осаджує сульфід. Іншим додатковим механізмом підвищення вмісту метану в біогазі може бути зсув метаногенезу від ацетотрофного шляху

( $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ ) до водневотрофного шляху ( $4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ ) в присутності Fe(II) завдяки утворенню хелату Fe(II) з ацетатом. Таким чином, ефект внесення тривалентного заліза в сульфатвмісну стічну воду залежить від його дози, що може бути визначена співвідношенням Fe(III)/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

Проводили порівняння ефективності старої та розробленої біотехнологій з застосуванням гідроксиду Fe(III) та ЗВБ для анаеробного очищення сульфатвмісних стічних вод (табл. 1). Як видно з наведених даних, внесення Fe(III) при анаеробній обробці стічних вод з високим вмістом органічних речовин і сульфату інтенсифікує процес очищення завдяки активності ЗВБ.

Досліджували вплив додавання тривалентного заліза на процес видалення фосфату при анаеробній обробці активного мулу. При додаванні Fe(OH)<sub>3</sub> та ЗВБ спостерігалось значне збільшення процента видалення фосфату порівняно з контролем. Так, при початковій концентрації розчинного фосфату 1000 мг PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/л,

Таблиця 1

Порівняння параметрів традиційної та нової біотехнологій

Розрахункові параметри	Біотехнологія	
	традиційна	нова
Максимальна швидкість видалення ХСК <sub>орг</sub> , кг/м <sup>3</sup> ·добу	0,037	0,068
Середня швидкість утворення біогазу, м <sup>3</sup> /м <sup>3</sup> ·добу	0,0445	0,0817
Максимальна швидкість утворення біогазу, м <sup>3</sup> /м <sup>3</sup> ·добу	0,0667	0,093,3
Вихід біогазу, м <sup>3</sup> /кг ХСК	1,2	1,1
Вміст метану в біогазі, %	29	55
Концентрація H <sub>2</sub> S в біогазі, г/м <sup>3</sup>	72	0
Початкове молярне співвідношення Fe(III)/SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0	1,75:1
Співвідношення клітин сульфатредукуючих бактерій та метаногенів*	35	6

Примітка: \*визначено при забарвленні олігонуклеотидними зондами для 16S рРНК: Dsv687 для сульфатвідновлювальних бактерій, Agc915 для метаногенів.

процент його видалення у контролі становив 48,5%, в той час, як у досліді – 100,0%; при концентрації 1500 мг PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/л – 31,5% та 99,7% відповідно; при концентрації 2000 мг PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/л – 21,3 та 90,7% відповідно; при концентрації 3500 мг PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/л – 14,2 та 67,6% відповідно. Максимальна кількість відновленого заліза складала 1685 мг/л, а максимальна кількість видаленого розчинного фосфату 2345 мг/л. Молярне-стехіометричне співвідношення утвореного Fe(II) : видалений фосфат було 1,2 : 1 при максимальній ефективності видалення фосфату (рис. 3а), що показує можливість видалення фосфату у вигляді FeHPO<sub>4</sub> або Fe<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Для досягнення 95% видалення розчинного фосфату оптимальним масовим співвідношенням Fe(III) до видаленого розчинного фосфату було 2 г/г (рис. 3б).

Від 10 до 50% фосфору, що потрапляє в аеробний реактор міських споруд по очищенню стічних вод, складає фосфор, що міститься в рідинній фракції анаеробного мулу, яка залишається після його концентрування. Концентрація фосфору у РФАМ складає від 50 до 200 мг/л. Потік рідинної фракції становить приблизно 4% від загального потоку стічних вод. Видалення фосфату з РФАМ може значно знизити постачання фосфору в аеробний реактор і таким чином підвищити якість очищеної води. Тому досліджували видалення фосфату із РФАМ за допомогою ЗВБ при додаванні гідроксиду заліза. Склад РФАМ був наступним, мг/л: загальний органічний вуглець, 679; загальне Fe(II), 65; розчинене Fe(II), 58;  $PO_4^{3-}$ , 128; та летучі жирні кислоти (ЛЖК), 1097.

Анаеробна накопичувальна культура (НК) була отримана з використанням РФАМ в якості поживного середовища. Концентрація ЗВБ у НК зростала протягом 10 діб культивування від  $10^3$  колоній-утворюючих одиниць (КУО)/мл на початку процесу до  $10^7$  КУО/мл та  $10^8$  КУО/мл після 7 та 10 діб культивування відповідно. Два типи колоній було визначено на твердому середовищі (агарізована

Рис. 3. Параметри видалення фосфату відновленим Fe(II).

РФАМ), що відповідали двом штамам ВК та МК залізовідновлювальних бактерій. Штам ВК було використано для порівняння ефективності застосування чистої та накопичувальної культур ЗВБ для видалення фосфату з РФАМ.

Обидва ізольованих штами були Грам-негативні палички, не утворювали спор, факультативні аероби. Визначення найближчої філогенетичної послідовності для гену 16S рРНК штамів ВК та МК за допомогою BLAST пошукової програми показало, що штам ВК був представником виду *Stenotrophomonas maltophilia*, а штам МК був близький до штаму *Brachymonas denitrificans*. Повна послідовність для *S. maltophilia* штам ВК та часткова послідовність для *B. denitrificans* штам МК були депоновані у базі даних Генетичного Банку під номерами AY641540 та AY646837 відповідно. Філограма для *S. maltophilia* штам ВК та інших ЗВБ було сконструйовано та представлено на (рис. 4). Залізовідновлювальна активність *S. maltophilia* та денітрифікуючої бактерії *B. denitrificans* показана нами уперше.

*S. maltophilia* штам ВК був здатним відновлювати Fe(III) використовуючи м-крезол, 2,4-діхлорфенол та п-фенілфенол як єдині джерела вуглецю в анаеробних умовах. Найбільш інтенсивне відновлення заліза спостерігалось при застосуванні дифеніламіну, третьої за важливістю сполуки у Європейському списку пріоритетних забруднювачів навколишнього середовища. Ця властивість ізолюваного штаму ВК може бути використана при анаеробній обробці стічних вод або рідинної фракції анаеробного реактора, які забруднені ксенобіотиками.

Накопичувальна культура була використана як джерело ЗВБ для відновлення Fe(III) в експериментах по видаленню фосфатів із РФАМ. Початкова концентрація загального Fe(II) була 50 мг/л для всіх зразків. Вона не змінювалася у контролі без додавання Fe(III) і в абіотичному контролі, але зростала в експериментах з внесенням Fe(III). Концентрації Fe(II) після 10 діб інкубації були 189, 255 та 319 мг/л в експериментах з масовим співвідношенням Fe(III) до початкового фосфату 2, 3 та 4 відповідно. Процент Fe(III) відновленого до Fe(II) складав 96–99%. Концентрація фосфату у контролі зростала від 70 до 82 мг/л. Можливо це було обумовлено лізисом мікробної біомаси з анаеробного реактору та звільненням

Рис. 4. Філограма, яка демонструє спорідненість *Stenotrophomonas maltophilia* штам ВК (1453 позицій в послідовності гену 16S рРНК) з іншими залізовідновлювальними та спорідненими бактеріями. Цифри на гілках є

фосфату із органічних речовин. Концентрація фосфату не змінювалася в абіотичному контролі та складала 72 мг/л на десяту добу культивування. Додавання гідроксиду заліза та накопичувальної культури ЗВБ до РФАМ викликало мікробне відновлення Fe(III) та утворення іонів Fe(II), які осаджували фосфат. Кінцева концентрація фосфату зменшувалася від 70 до 29 мг/л, 14 мг/л та 1 мг/л в експериментах з масовим співвідношенням внесеного Fe(III) до початкового фосфату 2, 3 та 4 відповідно. Середні швидкості видалення фосфату були 4,2; 5,5 та 17,0 мг PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/л×добу для експериментів з масовим співвідношенням Fe(III) до початкового фосфату 2, 3 та 4 відповідно. Значення рН було на рівні від 8,1 до 7,2 протягом усього культивування у контролі та експериментах.

Було досліджено ефективність відновлення заліза та видалення фосфату штамом ВК та НК (рис. 5). Початковий вміст органічних суспендованих речовин становив 0,37 мг/мл та 0,63 мг/мл в експериментах з штамом ВК та НК відповідно. Максимальні швидкості утворення Fe(II) були 2,58 та 2,96 мг/г ОСР×год для накопичувальної та чистої культур відповідно. Не спостерігалось значних змін у вмісті Fe(II) ні в контролі без додавання Fe(III) та інокуляту (рис. 5а), ні в абіотичному контролі. Концентрація фосфату зменшувалася від 82 до 7 мг/л після 6 діб інкубації та до 5 мг/л після 4 діб інкубації, коли штам ВК або НК були використані відповідно (рис. 5б). Швидкості видалення фосфату були 33 мг/г ОСР×доба для штаму ВК та 30 мг/г ОСР×доба для НК. Вміст фосфату практично не змінювався у контролі. У абіотичному контролі він також залишався стабільним і становив 83 мг/л.

Рідинна фракція анаеробного мулу містила в основному розгалужені леткі жирні кислоти. Більшість (84,2%) була представлена ізобутиловою та ізокапроною кислотами, 14,9% – валеріаноною, та тільки 0,9% – оцтовою кислотою. Швидкість розкладення розгалужених ізо-летких жирних кислот (C<sub>2</sub> – C<sub>6</sub>) нижче ніж відповідних кислот з нормальною будовою. Незважаючи на високу початкову концентрацію Fe(II) (близько 50 мг/л) в РФАМ, фосфат не осаджувався у контролі. Можливо, це обумовлено утворенням хелатів Fe(II) з органічними кислотами, які присутні у РФАМ, та нездатністю цих хелатів Fe(II) реагувати з фосфатом. Отже, важливою функцією ЗВБ є не тільки відновлення Fe(III), але також біодеградація розгалужених жирних кислот, які перешкоджають преципітації фосфату завдяки утворенню хелатів заліза.

Рис. 5. Зміна концентрації загального двовалентного заліза (а) та концентрації фосфату (б) на протязі експериментів з різним інокулятом ЗВБ: без інокуляту (●); чиста культура *S. maltophilia* штам ВК (■); накопичувальна культура НК (▲).

33

мг/л  $\times$  добу, порівнянню з ПК. Таким чином можливо видаляти фосфат з рідинної фракції з початковою концентрацією 70 мг/л за годину перебування у реакторі для обробки РФАР, якщо концентрацію біомаси ЗВБ збільшити до 48 г/л. Оптимальним масовим співвідношенням внесеного Fe(III) до початкового фосфату в РФАР було 4, вище ніж це було встановлено при анаеробній обробці активного мулу. Можливо це обумовлено утворенням хелатів Fe(II).

Масовим співвідношенням видаленого P до утвореного Fe(II) було 0,17 г P/г Fe(II). Подібне співвідношення, 0,22 г P/г Fe, було знайдено для хімічної преципітації фосфору Fe(III) із стічних вод. Отримані дані можуть бути використані при розробці нової біотехнології анаеробного видалення фосфату з рідинної фракції анаеробного мулу міських споруд по очищенню стічних вод з метою його подальшого використання як добрива у сільському господарстві.

Фосфат-залізний осад (ФЗО) був отриманий з РФАМ при застосуванні накопичувальної культури ЗВБ. Якість ФЗО як фосфорного добрива перевірялася при вирощуванні трьох рослин *Lycopersicon esculantum* L. (томати), *Casium annuum* L. (перець чилі) та *Ipomoea aquatica* (водний шпинат). Бідний за вмістом поживних речовин ґрунт (піщаний суглинок) застосовували як контроль (К). Рослини вирощували також на ґрунті з додаванням тільки азотного добрива (К1), на ґрунті з додаванням тільки фосфорного добрива (К2) та на ґрунті з додаванням сульфату амонію як азотного добрива та ФЗО як фосфорного добрива у співвідношенні N: P = 2:1 (Е). Результати наведено в табл. 2. Довжина та суха вага наземної частини рослини (стеблина) при додаванні ФЗО як фосфорного добрива (Е) до ґрунту, що містив азотне добриво (К1), збільшувалася: перцю – в 3,1 та 19; томатів – в 4,4 та 40; водного шпинату – в 2,1 разів та 5 відповідно.

Таблиця 2

Вплив внесення у ґрунт ФОЗ на ріст рослин

Параметр	К	К1 (з N)	К2 (з Р)	Е
Перець				
Довжина стеблини, см	6,0±0,4 <sup>a*</sup>	6,1±0,3 <sup>a</sup>	5,9±0,4 <sup>a</sup>	19,0±1,4 <sup>б</sup>
Довжина кореня, см	4,7±0,8 <sup>a</sup>	4,7±0,7 <sup>a</sup>	4,6±0,8 <sup>a</sup>	12,6±1,5 <sup>б</sup>
Томати				
Довжина стеблини, см	7,6±0,7 <sup>a</sup>	7,2±0,4 <sup>a</sup>	7,0±0,4 <sup>a</sup>	31,8±2,2 <sup>б</sup>
Довжина кореня, см	6,0±1,1 <sup>a</sup>	5,8±0,6 <sup>a</sup>	5,9±0,4 <sup>a</sup>	10,4±2,3 <sup>б</sup>

Примітка: Значення у одній стрічці з однаковою буквою не є статистично відмінними при достовірності  $P < 0,05$  (розраховано за допомогою статистичних процедур ANOVA і Tukey).

Розроблено апаратурну схему отримання фосфат-залізного осаду з рідинної фракції анаеробного мулу (рис. 5). Стічна вода після механічного очищення подається в аеротенк А-1 з первинного відстійника за допомогою відцентрового насоса. Аеробно оброблена відстоююча стічна вода поступає у вторинний відстійник В-3. Частина активного мулу повертається в аеротенк, а основна частина – надлишковий активний мул – поступає в анаеробний реактор АР-5. Відстоююча вода скидається в водоймище. Біогаз, який утворюється в процесі анаеробного перетравлення активного мулу на стадії АР-5, використовується на енергетичні потреби та для обігріву анаеробного реактору. Анаеробний мул після відстоювання в В-7 поступає на видалення води та утилізацію, а рідинна фракція анаеробного мулу зі вмістом фосфату 100 – 200 мг/л подається в реактор Р8 для

Рис.5. Принципова апаратурна схема анаеробного очищення стічних вод з використанням залізовідновлювальних бактерій.

Обладнання: А-1 – аеротенк; Н-2, Н-4, Н-6, Н-15 – відцентрові насоси; В-3, В-7, В-9 – відстійники; АР-5 – анаеробний реактор; Р-8, Р-14, Р-16 – реактори; Ц-10 – центрифуга; СШ-11 – стрічкова сушарка; Б-12 – бункер; ПМ-13 – пакувальна машина.

проведення його осадження двовалентним залізом. Частина РФАР подається на приготування розчину двовалентного заліза в реактор Р-16.

РФАР зі В-7 подається у реактор Р-8, де відбувається осадження фосфату Fe(II), розчин якого подається з реактору Р-16. Відстоювання фосфат-залізного осаду відбувається спочатку у вертикальному циліндричному відстійнику В-9. Очищена рідина повертається в А-1 на подальше очищення, а осад у вигляді суспензії з вологістю 90% – на Ц-10, де проводиться зневоднення фосфат-залізного осаду до вологості 25%. Рідина повертається в А-1 на подальше доочищення. ФЗО подається на СШ-11, де відбувається сушіння до вологості 5–10%. Теплоносій – повітря з температурою 170°C. Готовий продукт подається на Б-12 та ПМ-13, де проходить фасування та пакування в крафт-мішки по  $20 \pm 0,1$  кг, маркіровка та відправка на склад або на відвантаження.

Анаеробне вирощування ЗВБ проводиться при температурі  $(28 \pm 2)^\circ\text{C}$  у герметично закритому реакторі Р-14 на 90% заповненому поживним середовищем (ПС). Для створення анаеробних умов використовується газ азот, що пропускається через Р-14. Посівний матеріал (ПМ) готується у лабораторії анаеробним вирощуванням залізовідновлювальних бактерій *Stenotrophomonas maltophilia* штам ВК. Суспензія біомаси ЗВБ подається на Р-16 для ініціації процесу відновлення Fe(III) із залізної руди з частками менш ніж 4,75 мм та вмістом Fe(III) 65%, яка періодично загрузається у Р-16. Подалі відновлення Fe(III) відбувається вже існуючими на Р-16 ЗВБ. РФАР подається на Р-16 безперервно зі стадії В-7.

## ВИСНОВКИ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Залізовідновлювальні бактерії можуть застосовуватися для регуляції процесів анаеробної обробки стічних вод. Уперше запропоновано нові біотехнологічні способи очищення сульфатвмісних та фосфатвмісних стічних вод з використанням залізовідновлювальних бактерій та сполук тривалентного заліза.

2. В процесах очищення стічних вод із вмістом сульфатів або фосфатів можливо використовувати як накопичувальні, так і чисті культури залізовідновлювальних бактерій. Ізольовано та ідентифіковано шляхом сиквенування гену 16S рРНК штами видів *Stenotrophomonas maltophilia* та *Brachymonas denitrificans*. Залізовідновлювальна активність представників даних видів встановлена уперше.

3. Залізвмісна глина та залізна руда можуть використовуватися як дешеві та доступні джерела Fe(III). Додавання залізвмісної глини під час анаеробної обробки жировмісних стічних вод у кількості, що відповідала 4-х кратній дозі стехіометрично необхідного заліза для повного зв'язування довголанцюгових жирних кислот, ефективність видалення ХСК становила 98%, метаноутворення було на 60% вищим, ніж у контролі, збільшувалася активність метаногенів.

4. Додавання Fe(III) та залізовідновлювальних бактерій під час анаеробної обробки сульфатвмісних стічних вод зменшувало сульфатредукцію і покращувало видалення загального органічного вуглецю та утворення метану. Внесення гідроксиду тривалентного заліза при анаеробній обробці стічних вод з вмістом сульфату 3 г/л при молярному співвідношенні  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  1,75:1 підвищувало максимальну швидкість видалення  $\text{ХСК}_{\text{орг}}$  на 84%, максимальну швидкість утворення біогазу на 40%, вміст метану у біогазі – з 29% до 55%, та знижувало вміст сірководню в біогазі з 72 г/м<sup>3</sup> до нуля.

5. Встановлено за допомогою молекулярних проб флуоресцентною *in situ* гібридизацією та проточною цитофлуорометрією, що мікробна популяція сульфатвідновлювальних бактерій була домінуючою на протязі анаеробної обробки сульфатвмісних стічних вод, але при додаванні гідроксиду заліза їх доля зменшувалася у 6 разів.

6. Показана можливість використання залізовідновлювальних бактерій для видалення фосфату при очищенні стічних вод. Додавання гідроксиду заліза при анаеробному зброджуванні активного мулу з високою концентрацією фосфатів обумовлювало утворення іонів двовалентного заліза, які преципітували фосфат. При співвідношенні кількостей внесеного Fe (III) до фосфату 2:1, ефективність видалення фосфату складала 95% від початкового значення.

7. Застосування залізовідновлювальних бактерій та додаткове внесення Fe(III) забезпечувало анаеробне видалення фосфату з рідинної фракції анаеробного мулу міських споруд по очищенню стічних вод. Оптимальним масовим співвідношенням внесеного Fe(III) до початкового фосфату в рідинній фракції було 4:1. Співвідношення видаленого P до утвореного Fe(II) було 0,17 г P/г Fe(II), що практично не відрізнялося від витрат тривалентного заліза при хімічній преципітації фосфору на діючих спорудах по очищенню стічної води.

8. Отриманий з рідинної фракції анаеробного мулу міських очисних споруд фосфат-залізний осад (ФЗО) можливо застосовувати як фосфорне добриво. Додавання ФЗО як фосфорне добриво до ґрунту збільшувало суху вагу наземної частини рослин у 4 – 5 разів у порівнянні з контролем.

9. Розроблена апаратурно-технологічна схема видалення фосфатів з рідинної фракції анаеробного мулу міських споруд по очищенню стічних вод. Економія від застосування біологічного методу видалення фосфору із застосуванням залізної руди та залізовідновлювальних бактерій з рідинної фракції анаеробного мулу міських споруд по очищенню стічних вод потужністю 100 тис. м<sup>3</sup>/добу з концентрацією фосфату 150 мг/л у порівнянні з хімічним осадженням фосфату сульфатом двовалентного заліза складатиме 1 198 000 грн/рік, а у порівнянні з хлоридом тривалентного заліза – 1 858 000 грн/рік.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Иванов В.Н., Стабникова Е.В., Стабников В.П., Ким И.С., Зубер А. Влияние железосодержащих соединений на обработку жиросодержащих сточных вод // Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – т. 38, № 3. – С. 255 – 258. (Здобувачем було самостійно проведено порівняння відновлення Fe(III) з гідроксиду заліза, залізовмісної глини та залізної руди, вивчено вплив додавання залізовмісної глини на зниження ХПК, активність метаногенів (за флуоресценцією коензиму F<sub>420</sub>) та утворення метану при анаеробному зброджуванні жировмісних вод).

2. Стабников В.Н., Тэй С.Т.Л., Тэй Д.Х., Иванов В.Н. Влияние гидроокиси железа на удаление фосфата при анаэробном сбразивании активного ила // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – т. 40, № 4. – С. 442 – 447. (Здобувачем було самостійно проведено вивчено впливу додавання залізовідновлювальних бактерій (ЗВБ) та Fe(III) на виділення фосфатів при анаеробній обробці активного мулу та зниження концентрації загального органічного вуглецю та утворення біогазу).

3. Ivanov V., Wang J.Y., Stabnikov V., Xing Z., Tay J.H. Improvement of sludge quality by iron-reducing bacteria. Journal of Residuals Science and Technology. – 2004. – v. 1, № 3. – P. 165 – 168. (Здобувачем було самостійно досліджено утворення Fe(II) та виділення фосфату при анаеробній обробці активного мулу з додаванням ЗВБ та тривалентного заліза).

4. Стабников В.П., Иванов В.Н., Решетняк Л.Р., Тэй С.Т.Л. Влияние гидроксида железа на анаэробное сбразивание сульфатсодержащих сточных вод // Химия и технология воды. – 2004. – т. 26, № 5. – С. 471 – 478. (Здобувачем було самостійно вивчено вплив різних доз сульфату на відновлення тривалентного заліза, а також вплив додавання ЗВБ та Fe(III) на процес анаеробної обробки сульфатвмісних стічних вод, а саме на зниження ХПК, утворення біогазу, утворення сірководню, та співвідношення сульфатвідновлювальних бактерій та метаногенів, визначеного за допомогою молекулярних проб та флуоресцентної гібридизації *in situ*).

5. Стабніков В.П., Решетняк Л.Р. Вплив додавання заліза у різних дозах на процес видалення фосфату при анаеробному зброджуванні активного мулу // Наукові праці НУХТ. – 2004. – №. 15. – С. 38 – 40. (Здобувачем було самостійно

вивчено вплив дози тривалентного заліза на видалення фосфату при анаеробній обробці активного мулу за участю ЗВБ, при цьому аналізувалося утворення біогазу, співвідношення метану та двооксиду вуглецю в біогазі, зниження концентрації фосфату).

6. Стабніков В.П., Красінько В.О., Решетняк Л.Р. Вплив гідроксиду заліза на анаеробне зброджування сульфатвмісних стічних вод // Наукові праці НУХТ. – 2004. – Додаток до № 15. – С. 34 – 35. (Здобувачем було самостійно вивчено вплив додавання залізовідновлювальних бактерій та тривалентного заліза на процес анаеробної обробки сульфатвмісних стічних вод, а саме на утворення сірководню у біогазі та розчині).

7. Ivanov V., Stabnikov V., Zhuang W.Q., Tay J.H., Tay S.T.L. Phosphate removal from return liquor of municipal wastewater treatment plant using iron-reducing bacteria // Journal of Applied Microbiology. – 2005. – v. 98, № 5. – P. 1152 – 1161. (Здобувачем було самостійно отримано накопичувальні та чисті культури залізовідновлювальних бактерій, вивчено морфологічні та фізіологічні ознаки чистих культур ЗВБ, на основі визначення найближчої філогенетичної послідовності нуклеотидів для гену 16S рРНК ізольованих штамів проведено їх ідентифікацію (повна послідовність нуклеотидів гену 16S рРНК для *S. maltophilia* штам ВК та часткова послідовність нуклеотидів гену 16S рРНК для *V. denitrificans* штам МК були депоновані у базі даних Генетичного Банку під номерами АУ641540 та АУ646837 відповідно), вивчено здатність штаму ВК окислювати різні ксенобіотики з  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  як акцептором електронів, досліджено процес видалення фосфату з РФАМ при застосуванні тривалентного заліза та залізовідновлювальних бактерій).

8. Ivanov V., Stabnikov V., Tay S.T.L., Tay J.H. Application of iron-reducing bacteria for phosphate removal from returned liquor of municipal wastewater treatment plant // Civil Engineering Research, Nanyang Technological University. – 2005. – № 18. – P. 65 – 66. (Здобувачем було самостійно дослідженню взаємодія клітин ЗВБ та часток заліза, вивчено хімічний склад рідинної фракції анаеробного мулу (РФАМ) та процес відновлення заліза при застосуванні накопичувальних та чистих культур ЗВБ).

9. Стабніков В.П., Решетняк Л.Р., Красінько В.О. Видалення фосфату з рідинної фракції анаеробного реактора і застосування його як добрива // Наукові праці НУХТ. – 2005. – № 16. – С. 20 – 22. (Здобувачем було самостійно проведено випробування застосування отриманого з РФАМ фосфат-залізного осаду як фосфорного добрива на ріст рослин).

10. Ivanov. V., Tay S.T.L., Wang J.Y., Stabnikov V., Tay J.H. Innovative wastewater treatment biotechnologies based on reduction and oxidation of iron. Proceedings of International Conference “Asian Waterqual 2003”, Bangkok, Thailand, October 19 – 23, 2003. – p. 454 – 455.

11. Ivanov. V., Tay S.T.L., Wang J.Y., Stabnikov V., Zikun X., Tay J.H. Improvement of sludge quality by iron-reducing bacteria. Proceedings of International Water Association Conference “Resources from Sludge”, Singapore, 1–2 March 2004.

12. Stabnikov V., Ivanov V. Influence of ferric hydroxide on anaerobic treatment of sulfate-containing wastewater. 2nd IWA Young Researchers Conference, Wageningen, Netherlands, 3– 4 May 2004.

13. Стабніков В.П., Решетняк Л.Р. Аналіз складу мікробних популяцій при анаеробному очищенні сульфатвмісних стічних вод за допомогою олігонуклеотидних проб. X з'їзд Товариства мікробіологів України (15-17 вересня 2004 р.), Одеса: Астропринт, 2004. – С. 38.

14. Стабніков В.П., Решетняк Л.Р., Пирог Т.П. Анаеробне очищення сульфатвмісних стічних вод. II Всеукраїнська науково-практична конференція “Біотехнологія. Освіта. Наука” (6-8 жовтня 2004 р.). – Львів: Видавництва Національного університету “Львівська політехніка”, 2004. – С. 50.

15. Ivanov V., Tay S.T.L., Wang J.Y., Stabnikov V., Tay J.H. Innovative facility “BioIronTech” for enhanced removal of phosphate from wastewater. Proceedings of International Water Association Conference – Asia Pacific Regional Group Conference “1<sup>st</sup> IWA – ASPIRE”, 10 – 15 July, 2005.

16. Стабніков В.П., Красінько В.О., Решетняк Л.Р. Біотехнологічна система очищення стічних вод з використанням сполук заліза. IX Міжнародна науково-технічна конференція “Нові технології та технічні рішення в харчовій та переробній промисловості: сьогодні і перспективи”. (17-19 жовтня 2005 р.). – Київ, НУХТ, 2005. – С. 44 – 45.

### **Анотація.**

Стабніков В.П. Розробка способів анаеробного очищення стічних вод з використанням залізовідновлювальних бактерій. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, технічні науки. – Національний університет харчових технологій Міністерства освіти і науки України, Київ, 2006.

Дисертація присвячена питанням розробки нових біотехнологічних способів анаеробного очищення сульфат- та фосфатвмісних стічних вод з використанням залізовідновлювальних бактерій (ЗВБ) та сполук тривалентного заліза. При додаванні заліза(III) та ЗВБ в анаеробний реактор при очищенні сульфатвмісних стічних вод спостерігалось зменшення сульфатредукції та утворення сульфідів, а також покращення видалення загального органічного вуглецю та утворення метану.

Встановлена можливість використання залізовідновлювальних бактерій для видалення фосфату при очищенні стічних вод. Оптимальне співвідношення кількості внесеного Fe (III) до фосфату при анаеробному зброджуванні активного мулу складало 2:1, ефективність видалення фосфату становила 95% від початкового значення.

Отримано накопичувальні та чисті культури ЗВБ. Визначення найближчої філогенетичної послідовності нуклеотидів для гену 16S рРНК ізольованих штамів показало що вони є представниками видів *Stenotrophomonas maltophilia* та *Brachymonas denitrificans*. Залізовідновлювальна активність *S. maltophilia* та денітрифікуючої бактерії *B. denitrificans* показана уперше.

Запропонована технологія застосування залізовідновлювальних бактерій та внесення Fe(III) для анаеробного видалення фосфату з рідинної фракції анаеробного мулу міських споруд по очищенню стічних вод з метою подальшого використання фосфат-залізного осаду (ФЗО) як фосфорного добрива у сільському господарстві. Додавання ФЗО до ґрунту збільшувало суху вагу наземної частини рослин у 4 – 5 разів у порівнянні з контролем.

Розроблено апаратурна та технологічна схеми отримання ФЗО із рідинної фракції анаеробного мулу міських споруд по очищенню стічних вод.

**Ключові слова:** залізовідновлювальні бактерії, стічна вода, фосфат, сульфат, сульфід, анаеробне очищення, метаногенез, залізо.

#### **Анотація.**

Стабников В.П. Разработка способов анаэробной очистки сточных вод с использованием железовосстанавливающих бактерий. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология, технические науки. – Национальный университет пищевых технологий Министерства образования и науки Украины, Киев, 2006.

Диссертация посвящена вопросам разработки новых биотехнологических способов анаэробной очистки сульфат- и фосфатсодержащих сточных вод с использованием железовосстанавливающих бактерий (ЖВБ) и соединений трехвалентного железа. Основой данных способов является способность ЖВБ в анаэробных условиях переводить Fe(III) в Fe(II).

На основании экспериментальных исследований установлено, что добавление Fe(III) и ЖВБ в процессе анаэробной очистки сульфатсодержащих сточных вод угнетает сульфатредукцию и образование сульфида, а также повышает удаление общего органического углерода и образование метана. Эффект добавления трехвалентного железа в сульфатсодержащую сточную воду зависит от его дозы, которая может быть определена соотношением  $Fe(III)/SO_4^{2-}$ . Внесение гидроксида трехвалентного железа при анаэробной очистке сточных вод с содержанием сульфата 1,92 г/л при молярном соотношении  $Fe(III)/SO_4^{2-}$  1,75 повышало максимальную скорость удаления  $XPK_{орг}$  (кг/м<sup>3</sup>·сутки) на 84%, максимальную

скорость образования биогаза (л/м<sup>3</sup>·сутки) на 40%, содержание метана в биогазе – с 29% до 55%, и снижало содержание H<sub>2</sub>S в биогазе с 72 г/м<sup>3</sup> до нуля.

Установлено с помощью молекулярных проб флуоресцентной *in situ* гибридизацией и проточной цитофлуориметрией, что популяция сульфатовосстанавливающих бактерий была доминирующей в течении анаэробной обработки сульфатсодержащих сточных вод, но их доля уменьшалась в 6 раз после добавления гидроксида трехвалентного железа.

Показана возможность использования железовосстанавливающих бактерий при очистке фосфатсодержащих сточных вод. Добавление ЖВБ и гидроксида трехвалентного железа при анаэробном сбраживании активного ила с высокой концентрацией фосфатов обуславливало образование ионов двухвалентного железа, которые осаждали фосфат. При оптимальном соотношении количества внесенного Fe (III) к фосфату 2:1 эффективность удаления фосфата составляла 95% от начального значения.

Использование железовосстанавливающих бактерий и дополнительное внесение Fe(III) обеспечивало анаэробное удаление фосфата из жидкой фракции анаэробного ила городских сооружений по очистке сточных вод. Оптимальным массовым соотношением внесенного Fe(III) к начальному фосфату было 4. Массовое соотношение удаленного P к образованному Fe(II) составляло 0,17 г P/г Fe(II), что практически не отличалось от затрат Fe(III) при химическом осаждении фосфора на сооружениях по очистке сточных вод.

Показана возможность использования полученного фосфат-железного осадка (ФЖО) в сельском хозяйстве. Внесение ФЖО в качестве фосфорного удобрения в грунт увеличивало сухой вес наземной части растений в 4 – 5 раз по сравнению с контролем.

В процессах очистки сточных вод могут быть использованы как накопительные так и чистые культуры железовосстанавливающих бактерий. Определение нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК изолированных штаммов показало, что они являются представителями видов *Stenotrophomonas maltophilia* и *Brachymonas denitrificans*. Полная последовательность нуклеотидов гена 16S рРНК для *S. maltophilia* штамм ВК и частичная последовательность нуклеотидов гена 16S рРНК для *B. denitrificans* штамм МК депонированы в базе данных Генетического Банка под номерами AY641540 и AY646837 соответственно. Железовосстанавливающая активность *S. maltophilia* и денитрифицирующей бактерии *B. denitrificans* показана впервые.

На основе проведенных исследований разработана аппаратурная и технологическая схемы удаления фосфатов и получения фосфатного удобрения из жидкой фракции анаэробного реактора обработки активного ила городских сооружений по очистке сточных вод.

**Ключевые слова:** железовосстанавливающие бактерии, сточная вода, фосфат, сульфат, сульфид, анаэробная очистка, метаногенез, железо.

## **Annotation**

Stabnikov V.P. Development of the methods for anaerobic treatment of wastewater using iron-reducing bacteria. – Manuscript.

The candidate thesis for Ph.D. degree, the speciality 03.00.20 – Biotechnology. – National University of Food Technologies at Ministry of Education and Sciences of Ukraine, Kiev, 2005.

The thesis is devoted to the development of the new biotechnological methods for anaerobic treatment of sulphate- and phosphate-containing wastewater using iron-reducing bacteria and ferric. Addition of ferric hydroxide and iron-reducing bacteria in anaerobic treatment of sulphate-containing wastewater diminished both sulphate reduction and production of sulphide, increased removal of total organic carbon and methane production.

The application of iron-reducing bacteria for phosphate removal from wastewater treatment was shown. The optimal ratio of Fe (III) to phosphate was 2:1 for the treatment of phosphate-containing wastewater; phosphate removal efficiency was 95%.

The application of both enrichment and pure cultures of iron-reducing bacteria for the phosphate removal from wastewater was demonstrated. Two pure cultures of iron-reducing bacteria, *Stenotrophomonas maltophilia* BK and *Brachymonas denitrificans* MK, were identified by 16S rRNA gene sequencing. The ability of the facultative anaerobes *S. maltophilia* BK and *B. denitrificans* MK to reduce Fe(III) was shown at the first time.

Biotechnology including application of iron-reducing bacteria and addition of ferric for anaerobic removal of phosphate from return liquor from municipal wastewater treatment plant was proposed. Produced phosphate - iron precipitate could be used as phosphorous fertilizer in agriculture. Addition of phosphate - iron precipitate in soil increased the dry weight of stems and leaves of test plants in 4 – 5 times in comparison with the control.

**Key words:** *iron-reducing bacteria, phosphate, sulphate, anaerobic treatment, wastewater, ferric, ferrous, methanogenesis.*