

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА імені О. М. БЕКЕТОВА

В. О. Юрченко, О. Г. Мельнікова

БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЗАХИСТІ ДОВКІЛЛЯ

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ

*(для здобувачів третього (освітньо-наукового)
рівня вищої освіти денної та заочної форм навчання зі спеціальності 183 –
Технології захисту навколишнього середовища)*

Харків
ХНУМГ ім. О. М. Бекетова
2024

Юрченко В. О. Біотехнології в захисті довкілля : конспект лекцій для здобувачів третього (освітньо-наукового) рівня вищої освіти денної та заочної форм навчання зі спеціальності 183 – Технології захисту навколишнього середовища / В. О. Юрченко, О. Г. Мельнікова ; Харків. нац. ун-т міськ. госп-ва ім. О. М. Бекетова. – Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2024. – 55 с.

Автори:

д-р техн. наук, проф. В. О. Юрченко,
канд. техн. наук, доц. О. Г. Мельнікова

Рецензент

А. С. Карагяур, доктор технічних наук, доцент, професор кафедри водопостачання, водовідведення і очищення вод (Харківський національний університет міського господарства імені О. М. Бекетова)

*Рекомендовано кафедрою інженерної екології міст, протокол № 14
від 29 грудня 2023 р.*

© В. О. Юрченко, О. Г. Мельнікова, 2024

© ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2024

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
ТЕМА 1 ЕКОЛОГІЧНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ.....	5
1.1 Галузь науки біотехнологія	5
1.2 Основні напрями розвитку біотехнологій в екології	7
ТЕМА 2 БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ ЕКОЛОГІЧНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ.....	11
2.1 Біологічні агенти біотехнологій	11
2.2 Властивості основних біологічних агентів природозахисних біотехнологій.....	12
ТЕМА 3 ОСНОВНІ МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЯХ	19
3.1 Метаболізм бактерій	19
3.2 Конструктивний метаболізм прокариотів.....	20
3.3 Джерела енергії та донори електронів	21
3.4 Надходження речовин у клітину, біокаталіз	23
3.5 Катаболізм вуглеводів.....	24
3.6 Енергетичний метаболізм прокариотів	25
3.7 Біофізичні основи росту мікробної культури	27
ТЕМА 4 МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ПРИРОДОЗАХИСНИХ БІОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ	31
4.1 Стехіометричні, кінетичні та фізіологічні константи розвитку мікробних популяцій.....	31
4.2 Кількісна оцінка впливу технологічних параметрів на кінетичні показники (біохімічні і фізіологічні характеристики мікробних популяцій) біотехнологічних процесів	36
ТЕМА 5 ЕКОЛОГІЧНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ ПОВІТРООЧИСТКИ І ВОДООЧИСТКИ	41
5.1 Біотехнологія очищення газоподібних викидів.....	41
5.2 Біотехнології очищення стічних вод.....	44
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНИХ ДЖЕРЕЛ	54

ВСТУП

Конспект лекцій призначений для вивчення теоретичних і практичних засад у галузі досліджень, розрахунків, кількісної оцінки впливу технологічних чинників в екобіотехнологіях – біологічних технологіях, що використовуються для захисту навколишнього середовища. За змістом він дає основи знань та практичні навички для розуміння особливостей використання біотехнологій у природоохоронних цілях, властивостей біологічних агентів та фундаментальних біологічних процесів, що лежать в основі класичних та інноваційних технологій, та їх формалізації і може використовуватися для вивчення дисципліни «Біотехнології в захисті довкілля» аспірантами спеціальності 183 – Технології захисту навколишнього середовища.

Змістова частина конспекту лекцій побудована за окремими темами, які загалом охоплюють робочу програму курсу: біотехнології в захисті довкілля, біологічні агенти екологічних біотехнологій, основні метаболічні процеси, що використовуються в екобіотехнологіях, математичне моделювання природоохоронних біологічних технологій, екологічні біотехнології повітроочистки і водоочистки.

Основними задачами конспекту лекцій є оволодіння аспірантами методами ефективного застосування в захисті навколишнього середовища класичних та інноваційних біотехнологій, що підвищують надійність захисту природних середовищ, глибину вилучення забруднень з техногенних середовищ, які підлягають очищенню, поліпшують економічні показники обробки. За структурою дисципліна охоплює п'ять окремих тем, які функціонально та логічно пов'язані між собою. Кожна тема має назву і план. Для розвитку та поглиблення завдань дисципліни передбачені сучасні літературні джерела, що присвячені біотехнологіям технологій захисту атмосферного повітря і водних об'єктів.

ТЕМА 1 ЕКОЛОГІЧНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ

1.1 Галузь науки біотехнологія

Більшість промислових підприємств у технологічних процесах виробництва продукції широко використовують природні ресурси, що тягне за собою утворення значної кількості газоподібних, рідких і твердих відходів. Крім того, немало процесів передбачають використання екологонебезпечних технологій, що потребують механічного подрібнення, високотемпературних хімічних каталізаторів, підвищених концентрацій реагентів, високого тиску та інших факторів активації процесів, а це, своєю чергою, завдає значної шкоди навколишньому середовищу.

Біотехнологічним процесам навпаки притаманні м'які умови технологічних режимів (невисокі температури, малий тиск, нейтральні середовища, висока швидкість реакцій при незначних концентраціях компонентів тощо), тому вони найбільш наближені до природних процесів. Окрім того, біотехнологія базується на принципах перетворення й переміщення у просторі матеріалів, енергії та інформації, а це властиво живим організмам, біологічним системам і природним комплексам, тобто біотехнологічні процеси відповідають законам екологічної рівноваги та стійкості екосистем.

Біотехнологія (від греч. «bios» – «життя», «techne» – «мистецтво», «майстерність» та «logos» – «слово», «учення») становить наукову галузь, що досліджує можливості використання живих організмів та біологічних процесів у промисловому виробництві.

Біотехнологія належить до міждисциплінарних галузей. Вона виникла на базі біологічних, хімічних і технічних наук. Увібравши результати досліджень названих вище наук, біотехнологія стала символом розвитку суспільства. У прикладному значенні «біотехнологію» розуміють, як сукупність промислових методів, де використано живі організми, клітини, тканини, продукти їх

метаболізму, а також біологічні процеси для виробництва цінних для національної економіки продуктів.

Використання біотехнологічних методів у природоохоронних заходах дозволяє знешкоджувати різні забруднювачі, перетворюючи їх на менш агресивні для довкілля компоненти. Упровадження біотехнологій дає можливість випускати екологічно безпечну продукцію за рахунок максимального використання відходів виробництва з додатковим отриманням енергетичних ресурсів, біодобрив тощо. Завдяки біотехнологіям можна підвищити рівень екологічної безпеки окремих технологічних процесів у багатьох галузях національної економіки. Таким чином, людство пов'язує свої науково-технічні пріоритети, стратегію розвитку й соціальну політику саме з біологічними технологіями. Вивчення аспектів їхнього застосування допоможе ефективно вирішувати проблеми охорони навколишнього середовища та раціонального природокористування.

При цьому біотехнологія як екологічно спрямована наукова галузь відкриває перед людським розумом нові обрії, перспективи використання сучасних наукових досліджень і цінних для людини та суспільства розробок. Все більша увага приділяється використанню біотехнологічних методів у практиці збереження та відтворення природних ресурсів, а також розробці природоохоронних технологій, до яких потрібно віднести біологічне очищення стічних вод, повітря, біовідновлення ґрунтів, знешкодження токсичних речовин тощо.

Що стосується охорони навколишнього природного середовища, біотехнологію можна розглядати як розробку та використання біологічних об'єктів, мікробних культур, співтовариств, їх метаболітів і препаратів шляхом включення в природні колообіги речовин, елементів, енергії та інформації.

1.2 Основні напрями розвитку біотехнологій в екології

Історія біотехнології налічує тисячоліття (хлібопечіння, виноробство, сироробство тощо). Однак щорічно з'являються нові прикладні напрями біотехнології, загальним підходом для яких є штучне створення умов для еволюційних біогеохімічних процесів на Землі у вигляді характерних біореакторів, що реалізуються з великими швидкостями, залишаючись сумісними за своїми продуктами з навколишнім середовищем.

Біотехнологія знайшла широке застосування в охороні навколишнього середовища, зокрема при вирішенні таких прикладних питань:

- утилізація твердої фази стічних вод та твердих побутових відходів за допомогою анаеробного зброджування;
- біологічне очищення природних та стічних вод від органічних та неорганічних сполук;
- мікробне відновлення забруднених ґрунтів, одержання мікроорганізмів, здатних нейтралізувати важкі метали в осадах стічних вод;
- компостування (біологічне окиснення) відходів рослинності (опалого листя, соломи тощо);
- створення біологічно активного сорбуючого матеріалу для очищення забрудненого повітря.

Загальна схема методів біотехнологічного виробництва представлена на рисунку 1.1.

Залучення біотехнологій у розвиток урбанізованих територій може істотно впливати на вирішення екологічних проблем, дозволить здійснювати систему профілактичних заходів і ліквідувати наслідки забруднення довкілля. Досягнення екології як науки увійшли до наукового базису сучасної біотехнології і сприяли розвитку потужного напрямку екологічних біотехнологій.

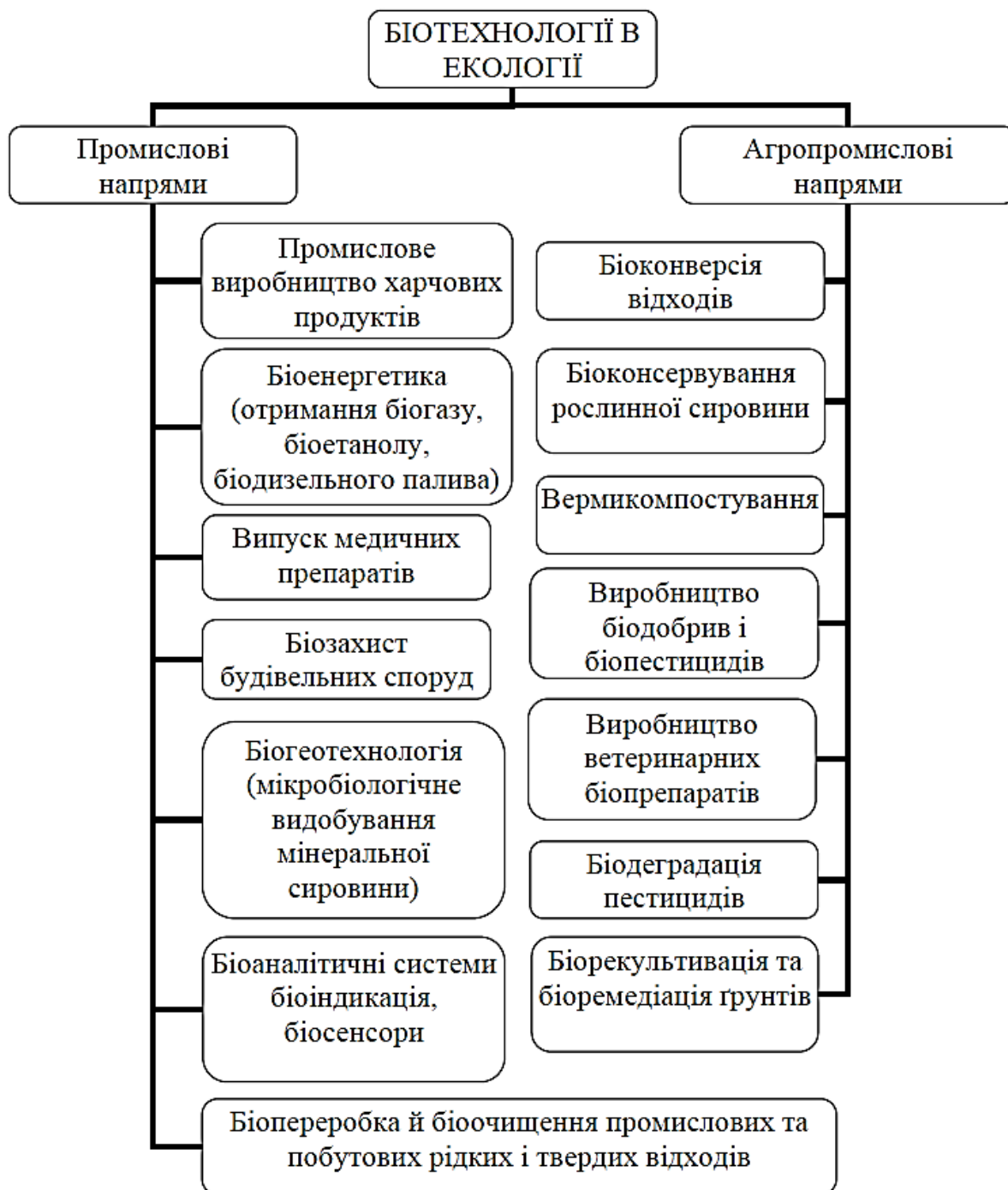


Рисунок 1.1 – Схема комплексу методів біотехнологічного виробництва та їх взаємозв'язку

Одним із найважливіших напрямів біотехнології є обмеження масштабів забруднення нашої планети промисловими, сільськогосподарськими і побутовими відходами, токсичними компонентами автомобільних викидів. Так виникає нова наукова дисципліна – екологічна біотехнологія («сіра» біотехнологія), що є новітнім підходом до охорони та збереження довкілля при

спільному використанні досягнень біохімії, мікробіології, генетичної інженерії, екології й хімічних технологій. Таким чином, специфічне застосування біотехнологічних методів для вирішення проблем довкілля, таких як перероблення відходів, очищення води, запобігання забрудненням, становить предмет екологічної біотехнології. На рисунку 1.2 подано основні напрями розвитку екологічної біотехнології, що становлять безпосередньо предмет її вивчення.



Рисунок 1.2 – Класифікація напрямів розвитку екологічної біотехнології

Сучасні наукові дослідження націлені на створення безвідхідних технологій, одержання легкоруйнівних полімерів, зокрема біогенного походження, а також на пошук нових активних мікроорганізмів – руйнівників полімерів (поліетилену, поліпропілену, поліхлорвінілу).

Зусилля біотехнології спрямовані на боротьбу з пестицидними забрудненнями – наслідком надмірного й нераціонального застосування отрутохімікатів. Розробляються технології із утилізації шкідливих викидів (хімікалії, нафта), що забруднюють воду та ґрунт, і сільськогосподарських відходів типу молочної сироватки для одержання харчових та кормових білкових продуктів, зокрема спеціальних препаратів, збагачених, наприклад, селеном дріжджів.

Таким чином, екологічні біотехнології поділяють на два напрями, що відповідають цілям застосування біотехнологічних процесів:

1) біотехнологічні методи, які використовують для захисту середовища від промислових і побутових відходів, деградації різних токсичних сполук, що вже потрапили в середовище, тощо;

2) упровадження біотехнологічних методів під час реалізації маловідхідних (безвідхідних) промислових процесів для досягнення повнішої утилізації сировини, зокрема вторинних сировинних ресурсів (рециклінг), інтенсифікація вирощування і використання поновлюваних природних ресурсів тощо.

ТЕМА 2 БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ ЕКОЛОГІЧНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ

2.1 Біологічні агенти біотехнологій

Основними елементами, що становлять біотехнологічні процеси, є: біологічний агент, субстрат, апаратура, технологічний режим і продукт. У біотехнологічних процесах можливе використання різних біологічних агентів із різноманітним рівнем організації – від клітинної до молекулярної.

Основне завдання у створенні будь-якого біотехнологічного процесу – розроблення та оптимізація науково обґрунтованої технології й апаратури для нього. До того ж, багато зі створених людиною низькомолекулярних сполук (отрутохімікати, детергенти) і високомолекулярних полімерів виявилися стійкими і не повністю розкладаються природними мікробними угрупованнями, тобто потребують розроблення вдосконалених технологій.

Біологічний агент є активним початком у біотехнологічних процесах та одним із найбільш важливих її елементів. Номенклатура біологічних агентів постійно розширюється. До основних можна віднести мікроорганізми, мікробні асоціації, ферменти, гриби, рослини. До цього часу найважливіше місце займає традиційний об'єкт – мікробна клітина. Необхідно зазначити, що екологічні біотехнології є маловідхідними технологіями з екологічно безпечною технічною реалізацією процесу. Вони спрямовані на очищення довкілля від різного роду забруднювальних речовин і виробництва екологічно чистої продукції з можливістю рециклінгу вторинних ресурсних потоків. Тому вибір біологічного агента тут має концептуальні основи, пов'язані з необхідністю глибоких знань у сфері фізіології та біохімічних процесів росту і метаболізму біологічних об'єктів та обов'язковості їх санітарно-гігієнічного оцінювання. Як біологічний агент у біотехнологіях використовують:

- мікроорганізми;
- віруси;
- мікробні асоціації та консорціуми;

- ферменти;
- рослини;
- мікроводорості.

У сучасному біотехнологічному виробництві серед відомих біооб'єктів домінують мікробні клітини прокаріотів та еукаріотів. Мікроорганізми як об'єкти біотехнології належать до трьох надцарств: без'ядерні (акаріоти), доядерні (прокаріоти), ядерні (еукаріоти) та п'яти царств: віруси, бактерії (еубактерії, ціанобактерії, архебактерії), рослини, тварини, гриби.

У біотехнологічних процесах найчастіше використовують бактерії, найпростіші, мікроскопічні водорості, гриби, віруси, бактеріофаги. Світ мікроорганізмів характеризується великою різноманітністю форм, яким властиві малі розміри, що становлять від десятих часток до десятків, сотень мікрометрів. Більшість з них одноклітинні, але зустрічаються й багатоклітинні, у яких відсутня диференціація на органи й тканини. Природне середовище існування мікроорганізмів – це ґрунт, вода, повітря та організми людини, тварин, рослин.

Панівна роль мікроорганізмів як біологічних агентів у біотехнології забезпечується завдяки таким властивостям:

- малі розміри (морфологічні особливості);
- активність (висока швидкість росту на живильних середовищах);
- простота генома;
- «гнучкість» обміну речовин;
- добра адаптаційна здатність до умов зовнішнього середовища.

2.2 Властивості основних біологічних агентів природозахисних біотехнологій

Прокаріотичні організми

Прокаріоти – це доядерні одноклітинні організми, які не мають сформованого ядра, оскільки в них ядерний матеріал не відділений від

цитоплазми ядерною оболонкою. До прокаріотичних організмів відносяться бактерії та ціанобактерії (синьо-зелені водорості). Незважаючи на малі розміри, досить просту будову спадкового матеріалу, обмежену кількість білкових молекул, ферментативних реакцій, прокаріоти своєю функціональною активністю не поступаються клітинам багатоклітинних еукаріотичних організмів, а тому мають значний практичний інтерес для біотехнологів.

Структурними елементами прокаріотичної клітини, які відрізняють її від еукаріотичної, є клітинна стінка, побудована з муреїну (пептидоглікану) або целюлози (ціанобактерії), прості й складні цитоплазматичні мембранні утворення (мезосоми, хроматофори, тилакоїди, хлоросоми, фікобілісоми, карбоксосоми, які виконують роль енергетичних центрів; аеросоми – газові вакуолі, магнітосоми), рибосоми 70 S; різноманітні клітинні включення (глікоген, сірка, волютин, ліпідні краплі, гранульоза, полі- β -оксибутират тощо); у таких клітинах немає мітохондрій, апарату Гольджі, ендоплазматичного ретикулуму, центріолей. Прокаріотична клітина не має ядерної мембрани. Ядерним еквівалентом у прокаріотів виступає нуклеоїд – кільцева замкнена молекула ДНК, яка міститься в ущільненому шарі цитоплазми.

Ключовим рушієм біотехнологічного процесу є клітина. Фізіологічні та морфологічні особливості клітин живих організмів, різний склад структурних біомолекул – усе це потребує різноманітних підходів до їх біотехнологічного використання.

До *акаріотичних організмів* або наноорганізмів відносяться неклітинні форми життя: віруси, бактеріофаги. В основі їх структури – нуклеїнові кислоти (ДНК або РНК) та білки, які ковалентно не зв'язані між собою.

Бактерії мають різну форму: кулясту (коки), паличкоподібну (бактерії, бацили), звивисту (вібріони, спірили, спірохети). Бактерії мають не тільки ядерний еквівалент – нуклеоїд, але й додатковий периферійний ДНК-вмісний елемент – плазмиду – маленьку кільцеву структуру, що складається з кількох генів, здатних забезпечити кодування певних ферментів клітини. Плазмиду

використовують у біотехнології як вектор (транспортний засіб) для перенесення генів у генно-інженерних технологіях.

Основними речовинами клітинної стінки бактерій є гігантська молекула пептидоглікану (муреїну, мукопептиду) і тейхоєві кислоти. Більшість видів бактерій належать до гетеротрофів (точніше до хемоорганогетеротрофів), тобто вони живляться готовими органічними речовинами, розкладаючи їх на більш прості, й одержують при цьому енергію для свого існування. Невелика кількість видів бактерій відносяться до автотрофів (хемотрофів), використовують енергію, що утворюється внаслідок окиснення мінеральних речовин, та CO₂ як джерело карбону. Лише невелика група цих організмів (зелені та пурпурні сіркобактерії) мають у своєму складі бактеріохлорофіл і здатні синтезувати органічні речовини, поглинаючи сонячну енергію, тобто відносяться до фотолітоавтотрофів.

Одні групи бактерій – аероби – вимагають для свого існування обов'язкову наявність кисню, інші – анаероби – розвиваються без нього, причому кисень для них шкідливий. Є проміжні форми бактерій – факультативні аероби, які можуть розвиватися як за наявності, так і за відсутності кисню .

Згідно із спеціальною класифікацією Берджі, бактерії поділяють на чотири відділи:

– грацилікути (Gracilicutes) – організми з тонкою клітинною стінкою, грамнегативні;

– фірмікути (Firmicutes) – ті, що мають товсту клітинну стінку, грампозитивні;

– тенерікути (Tenericutes), тобто «м'які», «ніжні» бактерії без ригідної клітинної стінки, у тому числі мікоплазми;

– мендозікути (Mendosicutes), так звані архебактерії, характерні дефектною клітинною стінкою, що мають особливу будову рибосом, мембран і рибосомних РНК (рРНК).

Архебактерії були відкриті недавно (у 70 роки минулого століття). Від інших видів бактерій їх відрізняє стійкість до екстремальних умов. Це, наприклад, ряд термофільних, метанотвірних, галофільних (солелюбних) та сульфо-бактерій.

Малі розміри бактерій не дозволяють їм накопичувати в собі резерв продуктів метаболізму, ферментів, тому за певних умов вони виділяють їх назовні.

Ціанобактерії, або синьо-зелені водорості (*Cyanea*) – це автотрофні прокаріоти, що посідають проміжну позицію між бактеріями та рослинами. Їх основним пігментом є хлорофіл *a*; крім того, вони також містять каротиноїди і фікобіліни (фікоціанін, фікоеритрин та алофікоціанін). У системі фототрофних мікроорганізмів вони відіграють особливу роль, оскільки здатні до фотосинтезу із виділенням кисню, на відміну від еубактерій.

Еукаріотичні організми

Еукаріотичні організми мають клітини із сформованим ядром та високоорганізованими органелами). До мікроорганізмів-еукаріотів відносяться одноклітинні та багатоклітинні організми, зокрема найпростіші, гриби, водорості (крім синьо-зелених). Об'єктами біотехнології серед еукаріотів можуть бути також макроорганізми, серед яких – нижчі (водорості) та вищі рослини (вища водна рослинність), багатоклітинні тварини (черв'яки).

Гриби (*Fungi*) – це велика група еукаріотичних гетеротрофних безхлорофільних організмів. Вегетативне тіло грибів складається із системи розгалужених тонких ниток – гіфів, які утворюють грибницю (міцелій). За структурою міцелію гриби поділяють на вищі й нижчі. У вищих грибів міцелій багатоклітинний, а у нижчих – неклітинний, багатоядерний. У клітинному міцелії чітко видно перегородки (септи). Основною речовиною клітинної стінки грибів є хітин.

Гриби мають спільні риси як з рослинами, так і з тваринними організмами. Наприклад, із тваринами їх поєднує наявність у клітинній стінці

хітину, а також запасного вуглеводу глікогену, відсутність пластид, гетеротрофний спосіб живлення, потреба у вітамінах. Як і рослини, гриби здатні до необмеженого росту, мають такий самий характер живлення (шляхом всмоктування речовин), вони нерухомі, розмножуються спорами, мають вакуолі.

До мікроскопічних грибів – мікроміцетів – відносяться дріжджі, цвілеві гриби (мукор, пеніцил, аспергіл тощо).

Водорості (Algae) – це нижчі таломні рослини, первинним середовищем існування яких є вода. Ці організми поділяють на десять самостійних відділів: зелені, жовто-зелені, золотисті, діатомові, бурі, червоні, пірофітові, евгленові, харові, синьо-зелені. Синьо-зелені водорості, або ціанобактерії, відносяться до надцарства прокаріотів (Procariotae), а інші відділи – до надцарства еукаріотів (Eucariotae). Такі види водоростей містять пігменти хлорофіл *a* і *b*, каротиноїди, а резервним вуглеводом у них є крохмаль. Деякі представники названих видів мають джгутики, що дозволяють їм переміщуватись.

Лишайники (Lichenes) – це симбіотичні організми, у яких поєднуються гриб – гетеротрофний мікобіонт (переважно роду аскоміцетів, іноді базидіоміцетів) й автотрофний фікобіонт, зокрема водорості (зазвичай зелені, зрідка ціанобактерії). Вони становлять потенційні об'єкти – (сенсори) для біоіндикації забрудненості атмосферного повітря.

За морфологічною ознакою виділяють три основні групи лишайників:

– накипні або коркові, тіло яких має вигляд накипу, що вкриває субстрат і тісно зростається з ним усією поверхнею, котра практично невіддільна від нього; до накипних відносяться близько 80 % усіх лишайників. Це найрезистентніші до забруднення атмосфери лишайники;

– кущові, талом яких циліндричний і має «серцевину» в центрі, а виглядають вони як більш або менш розгалужені кущі висотою до 15 см, що здатні підійматися від субстрату (грунту) або звисати з гілок, наприклад, довжина звислого тайгового лишайника уснеї може досягати 7–8 м. Це найчутливіші до забруднення атмосфери лишайники.

– листкові, їх тіло становить сукупність листоподібних пластинок, що прикріплені до субстрату пучками гіфів (ніжок) і легко відділяються від останнього. Займають середнє положення між накипними та кущоватими лишайниками за чутливістю до забруднення атмосфери.

Найпростіші (Protozoa) – це мікроскопічні одноклітинні тварини надцарства еукаріотів (Eucariotae), які проживають у воді, ґрунті або паразитують на тілі тварин. Підцарство включає п'ять типів: саркодові, джгутикові, споровики, інфузорії, конідоспоридії. Класифікація найпростіших базується на способах їхнього переміщення: за допомогою псевдоподій (псевдоніжок) це роблять амеба, форамініфери, радіолярії; джгутиків – евглена зелена, лямблій, трипаносома; чи війок – інфузорія-туфелька, сувойки.

Тіло найпростіших складається з цитоплазми, одного або кількох ядер та органел, які виконують певні життєві функції. За несприятливих умов найпростіші виділяють речовину, з якої формується захисна оболонка (циста). Більшість найпростіших живе у водному середовищі

Найпростіші входять до складу ґрунтових біоценозів, активних мулів (зооглею), що набули поширення в процесах біологічного очищення водоймищ та стічних вод. В активному мулі найпростіші виконують функції підтримання певної кількості мікроорганізмів. Живлячись бактеріями та плаваючими речовинами, вони також сприяють освітленню води. Ці організми можна використовувати як тест-індикатори якості очищення стоків.

Дрібні амеби виступають як індикатори зниження ефективності очищення середовищ, високого речовинного навантаження, незадовільної аерації, диспергування завислих частинок і високого вмісту в муловій суміші бактерій, не пов'язаних із пластівцями активного мулу. Присутність у мулі великих амеб свідчить про його нормальний склад.

У технологічному процесі очищення стічних вод особливе значення має фізіологічний стан війкових інфузорій. Серед багатоклітинних тварин у біотехнології очищення стічних вод використовують найдрібніших

представників – клас коловерток (Rotatoria). За своїм розміром вони подібні до представників одноклітинних найпростіших (інфузорій).

У біотехнологіях переробки органічних субстратів шляхом вермикультивування використовують позитивні властивості кільчастих черв'яків (Annelida), здатних швидко нарощувати біомасу, продукувати біогумус, з якого потім виготовляють біогумат (витяжку з біогумусу, що містить комплекс біологічно активних речовин, зокрема фітогормонів). Одними з найбільш відомих представників класу олігохетів є дощові черв'яки.

ТЕМА 3 ОСНОВНІ МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЯХ

3.1 Метаболізм бактерій

Сукупність усіх біохімічних перетворень у клітині називається метаболізмом. Він відбувається за двома основними напрямками. Перший забезпечує синтез складних клітинних сполук із більш простих. Тому він одержав назву біосинтез, конструктивний метаболізм або анаболізм. Переважна більшість реакцій синтезу потребує енергетичного забезпечення. Енергетичний метаболізм або катаболізм є потоком реакцій, які супроводжуються накопиченням електрохімічної енергії, що потім використовується клітиною (рис. 3.1).

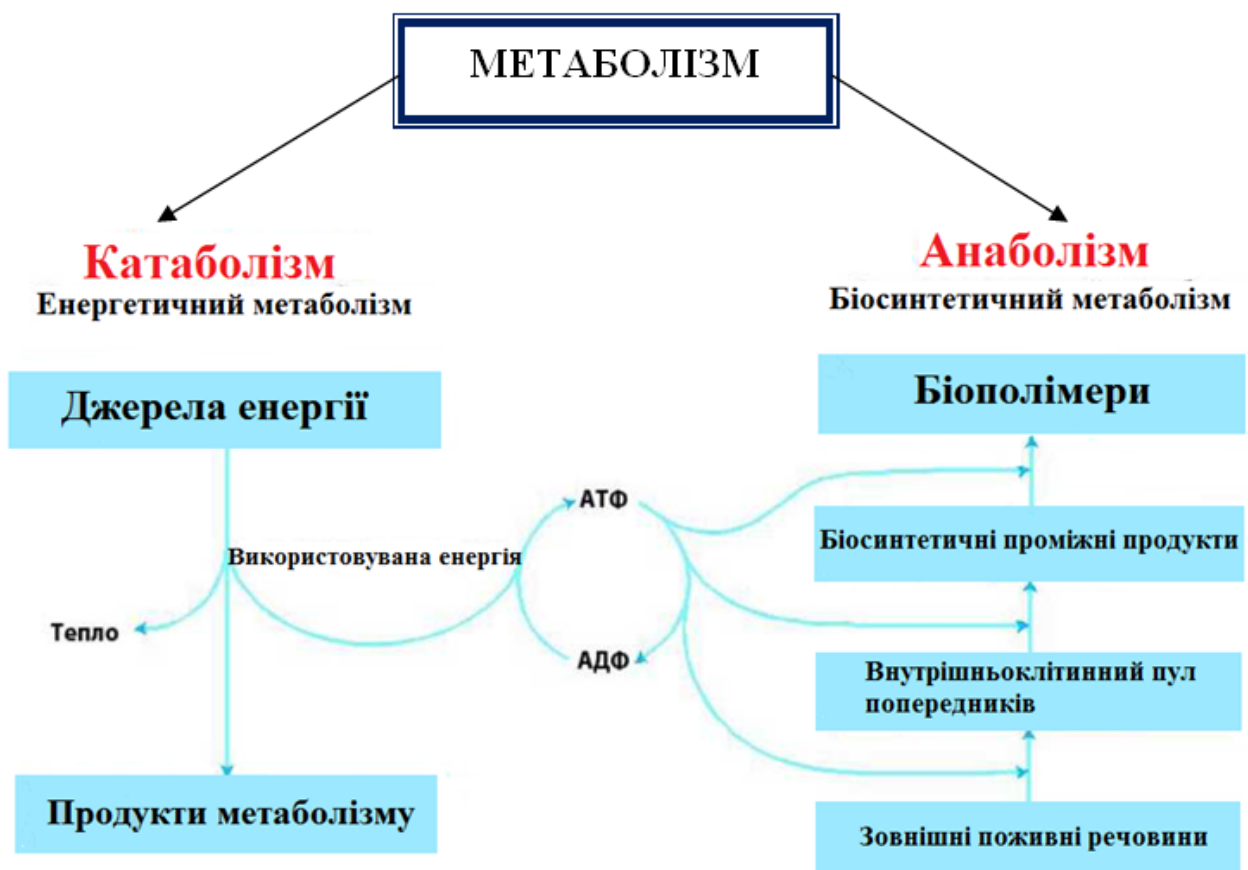


Рисунок 3.1 – Схема метаболізму у живих організмів

Метаболічні цикли мікробів надзвичайно різноманітні. Вони здатні використовувати різні види енергії й численні вихідні субстрати для побудови власних структур. Саме цим зумовлюється їх надзвичайне розповсюдження.

3.2 Конструктивний метаболізм прокариотів

Для того щоб клітина могла існувати, має відбуватись постійний обмін речовин з навколишнім середовищем. У клітину ззовні мусить надходити пластичний матеріал, з якого вона синтезує всі необхідні їй молекули.

У конструктивному метаболізмі основна роль належить карбону, оскільки всі сполуки, з яких побудовано живі організми, – це сполуки карбону. Їх відомо біля мільйона. Прокаріоти здатні діяти на будь-яку відому карбонову сполуку, тобто використовувати її в своєму метаболізмі. Залежно від джерела карбону для конструктивного метаболізму всі прокариоти поділяються на дві групи: автотрофи і гетеротрофи. **Автотрофи** (autos- сам, trophe – живлення) здатні синтезувати всі необхідні їм органічні сполуки з CO_2 як єдиного джерела карбону. **Гетеротрофи** (heteros-інший) – мікроорганізми, джерелом карбону для яких є готові органічні сполуки. Вони здатні споживати будь-які прості й складні карбонові сполуки – цукри, амінокислоти, багатоатомні спирти, парафіни тощо.

Сапрофіти – гетеротрофні організми, які безпосередньо від інших організмів не залежать, але потребують готові органічні сполуки. Вони використовують продукти життєдіяльності інших організмів або рослинні чи тваринні тканини, які розкладаються. До сапрофітів належить більша частина бактерій (понад 99 %). Ступінь вимогливості до субстрату у сапрофітів достатньо різна.

Мікроорганізмам необхідний нітроген для синтезу нітрогеновмісних сполук. Джерела його можуть бути різноманітними. Одні бактерії здатні засвоювати молекулярний нітроген повітря (бульбочкові мікроби), інші використовують різноманітні субстрати. Бактерії, як правило, засвоюють

нітроген у відновленій формі – це солі амонію, сечовини, органічні сполуки (амінокислоти, пептиди). Однак окислені форми азотистих сполук (нітрати) також можуть бути засвоєні мікробами.

Обмін білків у мікроорганізмів відбувається за двома основними напрямками: розщеплення поліпептидів до амінокислот і біосинтетичні процеси, пов'язані з конструюванням нових молекул. Кінцеві продукти – амінокислоти, що утворюються, – можуть зазнавати дезамінування та декарбоксілювання, перетворюючись на аміак, вуглекислий газ, оксикислоти. Необхідно зазначити, що мікроорганізми, на відміну від клітин організму людини, здатні синтезувати незамінні амінокислоти – лізин, метіонін, триптофан.

Синтез вуглеводів відбувається або з вуглекислого газу (автотрофи), або за рахунок карбономістких органічних сполук. Мікроорганізми здатні до синтезу вищих жирних кислот. Синтезовані ліпіди включаються до складу фосфоліпідів. Розщеплення ліпідів відбувається за участю ліполітичних ферментів.

3.3 Джерела енергії та донори електронів

Залежно від джерела енергії, що засвоюють мікробні клітини, їх поділяють на фототрофи і хемотрофи. **Фототрофні** бактерії здатні використовувати енергію сонячного світла. Інші прокаріоти, які одержують енергію за рахунок окисно-відновних реакцій у субстратах, називаються **хемотрофами**.

Для здійснення різноманітних реакцій клітині необхідні електрони. Речовини, які в процесах біохімічних перетворень віддають електрони, називаються донорами. Молекули, які одержують електрони, називаються акцепторами.

Мікроорганізми, для яких джерелом електронів є неорганічні сполуки H_2 , H_2S , NH_3^+ , Fe^{+2} та інші, називаються **літотрофами** (litos – камінь). Інші бактерії,

для яких донором електронів виступають органічні речовини, називаються **органотрофами**.

Залежно від способу одержання енергії, донора електронів та джерела вуглецю для засвоєння можна виділити 8 основних типів прокаріотичних організмів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Способи існування прокаріотів

Джерело енергії	Донор електронів	Джерело карбону	Спосіб існування	Представники прокаріот
Окисно-відновні реакції	Неорганічні сполуки (H ₂ , H ₂ S, NH ₃ , Fe ²⁺ та ін.)	CO ₂	Хемолітоавтотрофія	нітрифікуючі, тіонові, водневі бактерії; ацидофільні залізобактерії
		Органічні сполуки	Хемолітогетеротрофія	Метаноутворюючі архебактерії, водневі бактерії
	Органічні сполуки	CO ₂	Хемоорганавтотрофія	Факультативні метилотрофи, які окислюють мурашину кислоту
		Органічні сполуки	Хемоорганогетеротрофія	Більшість прокаріот*
Світло	Неорганічні сполуки (H ₂ O, H ₂ S, S ⁰ та ін.)	CO ₂	Фотолітоавтотрофія	Ціанобактерії, пурпурні та зелені бактерії**
		Органічні сполуки	Фотолітогетеротрофія	Деякі ціанобактерії, пурпурні та зелені бактерії
	Органічні сполуки	CO ₂	Фотоорганавтотрофія	Деякі пурпурні бактерії
		Органічні сполуки	Фотоорганогетеротрофія	Пурпурні та деякі зелені бактерії, галобактерії, деякі ціанобактерії

* Усі тварини, гриби; ** вищі рослини.

Для здійснення метаболічних перетворень і забезпечення життєдіяльності клітина потребує інших неорганічних сполук. Зокрема, сульфур входить до складу деяких амінокислот (метіонін, цистеїн), вітамінів та кофакторів (біотин, ліпоєва кислота, кофермент А), а без фосфору неможливо синтезувати нуклеїнові кислоти, він необхідний компонент фосфоліпідів, коферментів.

Усі необхідні іони металів клітина одержує за рахунок неорганічних сполук. Деякі елементи (магній, кальцій, калій, ферум) потрібні в досить великих концентраціях. Потреби в інших (цинк, марганець, молібден, ванадій, кобальт) незначні. Проте їх роль у клітині надзвичайно різноманітна, так як вони входять до складу основних клітинних метаболітів, виконуючи життєво важливі функції.

3.4 Надходження речовин у клітину, біокаталіз

Виділяють декілька механізмів проникнення речовин. **Пасивна дифузія** функціонує тоді, коли створюється градієнт концентрації речовини всередині бактеріальної клітини та зовні. Вона відбувається пасивно, тому що не вимагає затрат енергії. **Полегшена дифузія** здійснюється за рахунок особливих білків – пермеаз, які містяться в цитоплазматичній мембрані. Цей процес також не вимагає енергетичного забезпечення.

Однак більшість поживних речовин, метаболітів, іонів проникають у клітину за допомогою **активного транспорту**. Цей процес відбувається за рахунок енергії, яку генерує клітина, тому можливий перенос і проти градієнта концентрації речовини.

Усі біосинтетичні процеси та інші метаболічні перетворення в клітині відбуваються за участю особливих високоактивних біологічних каталізаторів, які називаються **ферментами**. Вони належать до 6 класів: гідролази (забезпечують реакції розщеплення за участю води), оксидоредуктази (каталізують різноманітні окисно-відновні реакції, беруть участь у процесах дихання), ізомерази (здійснюють процеси ізомеризації), трансферази

(переносять групи з одних субстратів на інші), ліази (каталізують реакції відщеплення хімічних груп негідролітичним шляхом), лігази (відповідають за синтез нових речовин, який відбувається за рахунок енергії АТФ).

3.5 Катаболізм вуглеводів

Прокаріоти розщеплюють глюкозу та інші гексози до піровиноградної кислоти, яка є одним із найважливіших продуктів обміну, трьома шляхами: гліколіз, пентозофосфатний шлях та КДФГ-шлях. Спочатку глюкоза фосфорилується ферментом гексокіназою за участі АТФ до вихідної сполуки для кожного з трьох шляхів. Гліколіз (шлях Ембдена – Мейергофа – Парнаса) переважає у більшості аеробних та анаеробних мікроорганізмів.

Пентозофосфатний шлях має важливе значення у підготовці проміжних речовин, що необхідні для синтезу амінокислот, нуклеїнових кислот тощо.

КДФГ-шлях окислення вуглеводів існує тільки у бактерій. Таким чином, у результаті окислення вуглеводів описаними трьома шляхами утворюється піровиноградна кислота, яка за участю кофакторів перетворюється в ацетил-коензим А (вітамін B₅), а останній вступає у послідовний ланцюг біохімічних реакцій циклу трикарбонових кислот (ЦТК). Важливе значення ЦТК полягає в тому, що в ньому повністю завершується окислення поживних речовин. Крім того, бактеріальна клітина забезпечується попередниками для синтезу амінокислот, ліпідів тощо.

Отже, вуглеводний обмін забезпечується або гідролітичним розщепленням молекул з утворенням моносахаридів або фосфоролізом. І в одному, і в іншому випадках процеси не супроводжуються вивільненням енергії. Це відбувається при бродінні – окисно-відновних реакціях анаеробного розщеплення органічних речовин, головним чином вуглеводів. Метаболіти, які утворюються під час бродіння, використовуються для біосинтетичних процесів. Продуктами бродіння є різні органічні кислоти (молочна, масляна, оцтова, мурашина), спирти (етиловий, бутиловий, пропіловий), ацетон, диоксид вуглецю, водень.

При бродінні вивільняється незначна частка енергії, яка накопичена в речовині. Як правило, на одну молекулу субстрату утворюється дві молекули аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ).

3.6 Енергетичний метаболізм прокаріотів

За своїм об'ємом реакції, що забезпечують клітину внутрішньою енергією, значно перевищують біосинтетичні процеси.

Протягом своєї еволюції бактерії виробили три способи одержання енергії: бродіння, дихання і фотосинтез.

На прикладі *E.coli* визначено, скільки необхідно енергії, щоб синтезувався 1 г клітинної речовини. Це потребує 37 ммоль АТФ, із них 20 ммоль використовується на синтез білка, 7 ммоль – на синтез ДНК і РНК, 2 ммоль – для полімеризації цукрів. Решта іде на підтримання життєдіяльності – осмос, рух клітини тощо.

Дихання бактерій

Це один із шляхів біологічного окислення в аеробних умовах, який відбувається з утворенням молекул АТФ. Процес клітинного дихання можна розділити на три послідовних реакції: гліколіз, цикл лимонної кислоти (ЦТК), ланцюг переносу електронів (ЦПЕ). Кількість АТФ, синтезованої при розщепленні глюкози при диханні становить 38 молекул на кожну молекулу глюкози. Під час цього процесу одні речовини (органічні та неорганічні сполуки) служать донорами електронів і при цьому окислюються, акцепторами електронів виступають неорганічні сполуки, вони відновлюються. В одних мікроорганізмів кінцевим акцептором електронів виступає кисень, у інших – неорганічні сульфати, нітрати, карбонати.

Основне джерело енергії для синтезу АТФ при диханні – це окислювання киснем водню (пов'язаного з коферментом), одержуваного в результаті

гліколізу, окислювання пірувату й реакцій циклу лимонної кислоти, а іноді й пентозофосфатного циклу.

Окиснювально-відновна система NAD-H/NAD має ОБП – 0,32 В. Різниця потенціалів стосовно кисню ($E_0' = 0,81$ В) велика: $\Delta E_0' = 1,13$ В, звідки $\Delta G^{\circ'} = 218$ кДж/моль. Між NAD-H і O_2 розташовується ланцюг транспорту електронів, або ланцюг дихання. Такі ланцюги складаються з низки окислювально-відновних систем, які послідовно передають один одному електрони. Завдяки цьому велика різниця ОБП (1,13 В) дробиться, так само як і вивільнювана енергія, на декілька «роздавальних пунктів», де енергія може передаватися системі *ADP-ATP*.

Дихальний ланцюг складається з оксидоредуктаз (рис. 3.2) – дегідрогеназ, флавопротеїдів, убіхінона, цитохромів і білків, що містять залізо й сірку. Деякі із цих білків транспортують тільки електрони (e^-), інші – водень (e^-+H^+).

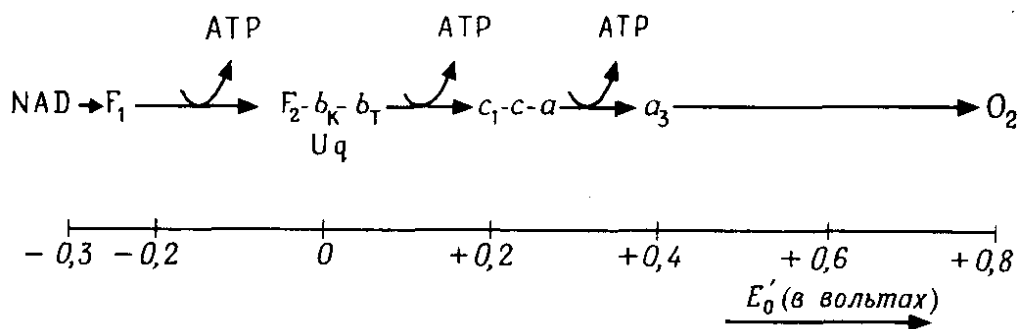


Рисунок 3.2 – Схема дихального ланцюга

У ланцюзі дихання при русі протона від NAD-H до O_2 звільняється 218 кДж на 1 моль NAD-H. Із цієї кількості шляхом утворення 3 молів АТФ запасається при стандартних умовах 90 кДж, а в клітині, імовірно, 120 кДж. Ферментний комплекс, що утворює АТФ, – мембранна АТФаза, перебуває на внутрішній стороні внутрішньої мітохондріальної мембрани.

Субстратне фосфорилування. Бродіння

Бродіння – це такий процес одержання енергії, при якому продукти розщеплення органічного субстрату є одночасно і донорами, і акцепторами

електронів (атомів водню). Бродіння властиве облигатним і факультативним анаеробам. Кисень у процесах бродіння не бере участі, він пригнічує бродіння, і у факультативних анаеробів воно замінюється диханням. Під час бродіння відбувається анаеробне розщеплення вуглеводів у результаті субстратного фосфорилування до піровиноградної кислоти. Процес утворення піровиноградної кислоти спільний як при бродінні, так і при аеробному диханні (гліколіз).

3.7 Біофізичні основи росту мікробної культури

Під урожаєм клітин (X) розуміють різницю між максимальною і початковою біомасою:

$$X = X_{max} - X_0 . \quad (3.1)$$

Цю величину виражають у вагових одиницях, частіше – у грамах. Особливо важливе відношення урожаю клітин до кількості спожитого субстрату (X/S). Якщо обидві ці величини виражають у вагових одиницях, то відношення X/S , що називають економічним коефіцієнтом, позначають через Y :

$$Y = dX/dS , \quad (3.2)$$

де dX – збільшення біомаси, що відповідає споживанню субстрату кількістю dS .

Якщо ж урожай (у грамах) відносять до молів спожитого субстрату, то економічний коефіцієнт, який називають у цьому разі молярним економічним коефіцієнтом, позначають через Y_m . Молярний економічний коефіцієнт Y_m дозволяє пов'язати урожай клітин з одержаною з якого-небудь джерела енергії (тобто якого-небудь субстрату) кількістю АТФ (макроергічні еквіваленти). Y_{ATP} – енергетичний коефіцієнт, що виражається в грамах клітинної маси на 1 моль АТФ. Цей коефіцієнт можна обчислити, якщо відомий шлях розщеплювання цього субстрату і вихід АТФ у результаті цього

розщеплювання. Швидкість споживання субстрату культурою на цей момент часу виражається співвідношенням

$$qX = dS/dT, \quad (3.3)$$

де X – біомаса, а коефіцієнт q відомий як метаболічний коефіцієнт, або питома швидкість метаболізму.

Метаболічний коефіцієнт аналогічний ферментативній активності. Метаболічний коефіцієнт можна виразити також через економічний коефіцієнт (Y) і питому швидкість росту (μ) та подати ще в такому вигляді:

$$q = \mu / Y. \quad (3.4)$$

Параметр μ , що означає швидкість росту одиниці біомаси ($1/X$) (dX/dt), називають питомою швидкістю росту і вимірюють в одиницях, обернених у часі ($1/t$). Цей параметр можна обчислити зважаючи на те, що

$$dX = \mu \cdot X dt, \quad (3.5)$$

де dX/dt – швидкість росту;

X – біомаса;

μ – коефіцієнт пропорційності («питома швидкість росту»).

Звідси

$$\mu X = dX/dt \text{ або } \mu = dX/dt \cdot 1/X. \quad (3.6)$$

Якщо μ – стала, то інтеграція рівняння матиме такий вигляд:

$$\ln X = \ln X_0 + \mu t, \quad (3.7)$$

де X_0 – біомаса в початковий момент часу $t = 0$.

Зростання популяції клітин, що підлягає цьому закону, називають експоненціальним, або логарифмічним зростанням. Графік залежності $\ln X$ від часу матиме вигляд прямої лінії з нахилом μ .

Початкова фаза експоненти зазвичай сприймається, як лаг-фаза, частково, у зв'язку з порогом розпізнавання початку зростання за каламутністю за $lg Nt = 5$ або 6 . Від цієї уявної лаг-фази необхідно відрізняти істинну лаг-фазу, якщо розмноження немає і відбувається приготування клітини до початку розмноження процесами ініціацій у середині клітини. Лаг-фаза визначається відрізком часу, що відсікається на напівлогарифмічному графіку прямої кількості живих клітин. У процесі наближення до граничної кількості – зростання сповільнюється. Зазвичай максимальна кількість визначається використанням поживного субстрату, але можуть бути й інші причини, наприклад отруєння продуктами обміну. Є й більш тонші механізми регуляції густоти популяції з використанням сигнальних молекул, підвищення концентрації яких у середовищі сприймається генетичним апаратом бактерій. Після досягнення максимально можливої в цих умовах густоти бактерії переходять у стаціонарну фазу, що характеризується іншим фізіологічним станом, який зазвичай позначають як набіотичний. Виділяють дві особливості емпіричної залежності росту культур мікроорганізмів:

1. Швидкість зміни кількості мікроорганізмів у режимі його росту (в експоненціальній фазі) лінійно пов'язана з концентрацією клітин у системі:

$$\mu N = \frac{dN}{dt}, \quad (3.8)$$

де N – кількість клітин;

μ – питома швидкість зростання.

Приймаємо, що μ не залежить від часу в досліджуваному інтервалі.

Власне, це рівняння в інтегральній формі і є рівнянням експоненціального зростання. Його інтеграція за початкових умов $t = 0, N = N_0$ приводить до функції

$$N = N_0 \cdot e^{\mu t}. \quad (3.9)$$

2. Було визначено, що здебільшого значення питомої швидкості зростання залежить від концентрації лімітуючого субстрату, і ця залежність може бути подана так:

$$\mu(S) = \frac{\mu_m \cdot S}{K_S + S}, \quad (3.10)$$

де μ_m – гранична максимальна питома швидкість росту;

K_S – параметр, що одержав назву константи Міхаеліса, константи спорідненості субстрату до мікроорганізму.

Між питомою швидкістю зростання μ і концентрацією субстрату S існує гіперболічна залежність (рис. 3.3), що була встановлена Моно. Ця залежність виразно виявляється під час періодичного процесу культивування.

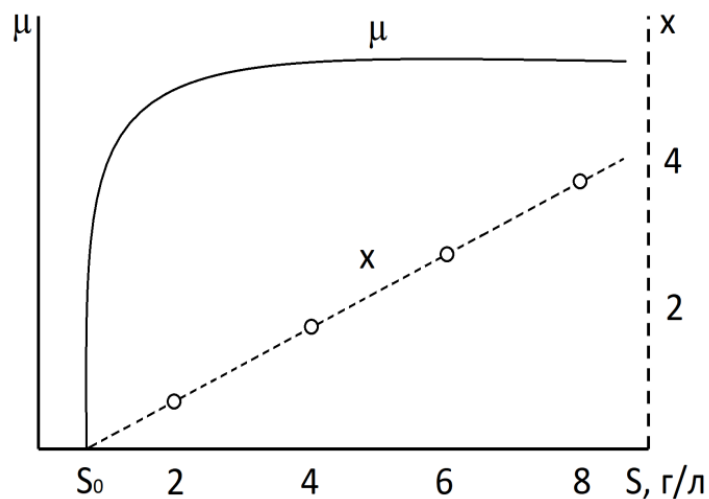


Рисунок 3.3 – Залежність швидкості зростання й урожаю x від початкової концентрації субстрату (за Г. Шлегелем, 1987)
(S_0 – мінімальний поріг концентрації субстрату)

Принциповою особливістю кінетики мікробних популяцій є залежність швидкості росту культури від концентрації одного або декількох найбільш важливих компонентів середовища, що забезпечують біосинтетичну основу метаболізму. Ці компоненти одержали назву лімітувальних субстратів і певною мірою регулюють швидкість росту популяції.

ТЕМА 4 МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ПРИРОДОЗАХИСНИХ БІОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

Останнім часом опис розвитку біологічних популяцій все частіше робиться за допомогою математичного апарату диференціального й інтегрального числення, теорії систем диференціальних рівнянь з використанням ЕОМ. Методи математичного моделювання з одного боку забезпечують можливість фундаментального дослідження динаміки біологічних процесів з урахуванням всієї сукупності ефектів (зокрема екологічних факторів і політантів екзогенного походження), які ускладнюють зростання популяції, з іншого – дозволяють вести обґрунтований пошук технологічних режимів, тонкого управління процесом зростання популяцій.

Математичні моделі, як природних біологічних процесів, так і біотехнологій, ґрунтуються на біологічних уявленнях про кінетичні властивості процесів (швидкості росту, розмноження, загибелі, інтенсивності взаємодії). Вони дозволяють вивчити якісну і кількісну просторово-часову структуру системи, розкрити причинно-наслідкові зв'язки

4.1 Стехіометричні, кінетичні та фізіологічні константи розвитку мікробних популяцій

У дослідженнях процесів, що відбуваються в природних середовищах і в біотехнологічних спорудах (зокрема в біологічних очисних спорудах), застосовуються основні принципи і поняття, розроблені стосовно ферментних систем. Найбільш значущими в цій сфері були роботи Моно, який висунув постулат, що математична закономірність розвитку складної популяції аналогічна закономірностям розвитку чистої бактеріальної культури, тобто до них застосовні принципи ферментативної кінетики.

Виокремлюють два типи процесів лімітованого росту популяцій. У першому з них живильний субстрат вноситься в систему один раз, і далі він в

процесі росту тільки споживається. У біотехнологіях такий процес називають періодичним культивуванням. У другому процесі, що називається безперервним культивуванням, у ході росту популяції субстрат постійно додається в систему, при цьому вилучається надлишок біомаси. Система, у якій швидкості подачі субстрату і вилучення біомаси постійні, називається хемостат.

Динаміка популяції в умовах періодичного культивування описується системою рівнянь, відомих як модель Моно:

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &= X \cdot \frac{r_{max} \cdot S}{K_S + S} \\ \frac{dX}{dt} &= -\frac{1}{Y} \cdot \frac{dS}{dt} \end{aligned} \quad (4.1)$$

де X – концентрація біомаси;

S – концентрація субстрату, що лімітує;

t – час;

r_{max} – максимальна питома швидкість росту;

K_S – константа напівнасичення, яка дорівнює концентрації субстрату, при якій швидкість процесу дорівнює $r_{max}/2$;

Y – економічний коефіцієнт.

Система (4.1) має аналітичний розв'язок:

$$\left(1 + \frac{YK_S}{YS_0 + X_0}\right) \ln \frac{X}{X_0} - \frac{YK_S}{YS_0 + X_0} \ln \frac{YS_0 + X_0 - X}{YS_0} = r_{max} t, \quad (4.2)$$

де S_0 і X_0 – початкові концентрації субстрату і біомаси відповідно.

На практиці часто застосовується також перший інтеграл системи (4.3):

$$X - X_0 = Y(S_0 - S), \quad (4.3)$$

де Y (yield – врожай, англ.) – маса клітин, утворена на одиницю використаного компоненту середовища, становить особливо важливий ростовий параметр, який називають економічним коефіцієнтом (або виходом біомаси). Цю величину визначають за рівнянням:

$$Y = \frac{X_i - X_0}{S_0 - S_i}, \quad (4.4)$$

де X_i – маса (концентрація) сухої речовини клітин в i -й момент часу (до вступу культури в стаціонарну фазу росту), г/дм³;

X_0 – маса (концентрація) сухої речовини клітин відразу після інокуляції середовища, г/дм³;

$(X_i - X_0)$ – врожай бактеріальної культури (врожай залежить від кількості та природи живильних речовин, що використовуються, а також від умов культивування), г/дм³;

S_0 – маса (концентрація) поживного субстрату відразу після інокуляції середовища, г/дм³;

S_i – маса (концентрація) поживного субстрату в i -й момент часу (до вступу культури в стаціонарну фазу росту), г/дм³;

$(S_0 - S)$ – кількість спожитого субстрату (компоненту середовища), г/дм³.

Економічний коефіцієнт чи витрати на підтримку відноситься до стехіометричних, а константа напівнасичення (K_S) і максимальна питома швидкість росту (r_{max}) – до кінетичних коефіцієнтів, які широко використовують у математичних моделях біологічних і біотехнологічних процесів.

Для опису лімітованого росту популяції в хемостаті застосовують таку систему рівнянь:

$$\begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= X \cdot \left(\frac{r_{max} \cdot S}{K_S + S} - D \right) \\ \frac{dS}{dt} &= D \cdot (S_0 - S) - \frac{X}{Y} \cdot \frac{r_{max} \cdot S}{K_S + S} \end{aligned} \quad (4.5)$$

Параметр D називається протокою, вона чисельно дорівнює швидкості подачі живильного середовища (субстрату) у культиватор (ферментер) – Q , нормованої на ефективний обсяг культиватора – V :

$$D = Q/V, \quad (4.6)$$

Розмірність протоки – [час]⁻¹. На практиці часто використовують співвідношення, одержувані з аналізу стаціонарного стану хемостата:

$$\bar{r} = D, \bar{S} = \frac{K_S \cdot D}{r_{max} - D}, \bar{X} = Y(S_0 - \bar{S}), \quad (4.7)$$

де r_{max} – стаціонарна питома швидкість росту популяції, S і X – стаціонарні концентрації субстрату і біомаси.

Стаціонарне значення концентрації біомаси має задовольняти співвідношення

$$\bar{X} = YS_0 + X_0. \quad (4.8)$$

Стехіометричні, кінетичні, фізіологічні константи та коефіцієнти, які використовують для опису деяких біотехнологій очистки стічних вод від сполук нітрогену, формальдегіду та процесів у каналізаційних колекторах, наведено в таблиці 4.1–4.3.

Таблиця 4.1 – Стехіометричні і кінетичні константи нітрифікації іmobilізованими і вільно плаваючими мікробіоценозами

Константи	Біосорбційна нітрифікація мінералізованих, висококонцентрованих за N-NH ₄ стічних вод	Нітрифікація вільно плаваючого мікробіоценозу
$K_{m n}$, г/м ³	4,6	8,0
$K_{0 m}$, г/м ³	1,0	0,4
μ_{max} , доба ⁻¹	1,0	0,7
Y, г/г	0,29	0,24
a_{pH}	$K_{II_1} = 5,8$ $K_{IH_1} = 9,7$; $K_{II_2} = 4,8$ $K_{IH_2} = 10,0$	Не визн.
$K_{I XPK}$	40	Не визн.

Таблиця 4.2 – Стехіометричні, кінетичні, фізіологічні константи та коефіцієнти, використані для опису детоксикації формальдегіду шляхом денітрифікації

Константи	Размірність	Значення
Y_H	г/г	0,3–0,55
K_S	мг/дм ³	100–130
μ_{Hmax}	сут ⁻¹ (ч ⁻¹)	2,2–2,4;3,
$\rho_{max \delta}$	мг/Г·ч	295
Y_D	г/г	0,9
K_N	мг/дм ³	25
k_T	сут ⁻¹	0,03
K_{de}	мг БСК/мг біомаси	0,024
α	доба ⁻¹	0,9
b_1	–	0,24
η	–	0,8
apH	–	6,5; 5,5 9,5; 10,5
K_{O_2}	мг/дм ³	1,0

Таблиця 4.3 – Значення кінетичних, стехіометричних і фізіологічних констант сульфатредукції, яка відбувається в мережах водовідведення

Константи	Значення
$K_{ХПК}$, г/м ³	48
$Y_{ХПК}$, г/г	0,47
μ , сут ⁻¹	0,8
K_{S-SO_4} , г/м ³	10
Y_{S-SO_4} , г/г	0,15
a_{Eh} константи інгібування	рівняння
a_{pH} константи інгібування	$K_{II1_i} = 5,1, K_{II2_i} = 4,8$, при рН <7,0 $K_{IH1_i} = 8,0, K_{IH2_i} = 8,3$ при рН >7,0

4.2 Кількісна оцінка впливу технологічних параметрів на кінетичні показники (біохімічні і фізіологічні характеристики мікробних популяцій) біотехнологічних процесів

До найважливіших кінетичних характеристик процесів у біотехнологіях відносяться питома швидкість росту мікробних популяцій r :

$$(r = \frac{\Delta X}{\Delta t \cdot X} = \frac{X_{i+1} - X_i}{(t_{i+1} - t_i) \cdot X_i}), \quad (4.9)$$

і питома швидкість перетворення субстрату ρ

$$(\rho = \frac{\Delta S}{\Delta t \cdot X} = \frac{S_i - S_{i+1}}{(t_{i+1} - t_i) \cdot X_i}). \quad (4.10)$$

Ці характеристики залежать від цілої низки технологічних параметрів (кислотності середовища, температури, концентрації біогенних елементів, «важких» металів, кисневого режиму тощо):

$$r = f(pH, T^0, O_2, C, N, Cu, Zn...),$$

$$\rho = f(pH, T^0, O_2, C, N, Cu, Zn...)$$

Вплив на r і ρ кислотності середовища, температури, кисневого режиму, концентрації біогенних елементів, «важких» металів, кисню враховується за допомогою мультиплікативних коефіцієнтів (K_{pH} , K_t , K_{O_2} тощо), значення яких може змінюватися від 0 до 1.

$$r = r_{max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot K_{I_2} \cdot K_t \cdot K_{pH}, \quad (4.11)$$

$$\rho = \rho_{max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot K_{I_2} \cdot K_t \cdot K_{pH}, \quad (4.12)$$

де r_{max} і ρ_{max} – максимальна питома швидкість росту популяції і максимальна питома швидкість перетворення живильного субстрату відповідно.

Вплив концентрації «важких» металів у середовищі на активність життєдіяльності мікробних популяцій враховується за допомогою коефіцієнтів інгібування. Оцінка впливу концентрації розчинного кисню у водному середовищі залежить від відношення до кисню мікробної популяції:

– для аеробної популяції використовується константа напівнасичення K_{O_2} – концентрація кисню в середовищі, при якій активність процесу дорівнює половині максимальної;

– для анаеробної популяції – константа інгібування K_{iO_2} – концентрація кисню в середовищі, при якій активність процесу знижується удвічі порівняно з максимальною.

Оцінка впливу рН середовища на розвиток популяцій

Залежність швидкості біохімічних процесів від pH середовища описується дзвоноподібною залежністю. K_{pHi} – коефіцієнт, що враховує вплив pH , можна кількісно оцінити за методом:

$$K_{pHi} = \begin{cases} F(pH_{on} - pH, pH_{on} - K_{IL1_i}, pH_{on} - K_{IL2_i}), & \text{якщо } pH < pH_{on} \\ F(pH - pH_{on}, K_{IH1_i} - pH_{on}, K_{IH2_i} - pH_{on}), & \text{якщо } pH > pH_{on}, \end{cases} \quad (4.13)$$

де pH_{on} – оптимальне значення pH для конкретного біохімічного процесу;

$K_{IL1_i}, K_{IL2_i}, K_{IH1_i}, K_{IH2_i}$ – константи інгібування біохімічних процесів іонами водню.

Константи K_{IL1_i}, K_{IL2_i} описують інгібування в більш кислій області pH , а K_{IH1_i}, K_{IH2_i} – в більш лужної області pH . Константи K_{IL1_i}, K_{IH1_i} чисельно дорівнюють величині pH , за якої швидкість метаболізму знижується вдвічі, а K_{IL2_i}, K_{IH2_i} чисельно дорівнюють величині pH , за якої швидкість метаболізму знижується в 100 разів. Розглянуті значення констант співвідносяться між собою так: $K_{IL2_i} < K_{IL1_i} < K_{IH1_i} < K_{IH2_i}$. Графік залежності K_{pHi} має

трапецієподібну форму. До того ж ширина трапеції визначається константами K_{II1_i} , K_{II1_i} , а крутість бічних схилів – K_{II2_i} , K_{II2_i} .

$$K_{pH}(x_1, x_2, x_3) = \frac{1}{1 + (x_1 / x_2)^{\ln(99) / \ln(x_3 / x_2)}}, \quad (4.14)$$

де – x_1, x_2, x_3 – аргументи залежності (4.13).

Оцінка впливу температури на розвиток популяцій

K_t – коефіцієнт, що враховує вплив температури на активність розвитку популяцій, можна кількісно оцінити за рівнянням:

$$K_t = 10^{k_T(T - T_{opt})}, \quad (4.15)$$

де k_T – коефіцієнт, рівний для вільноплаваючої мікрофлори – 0,02, для іммобілізованої мікрофлори – 0,03;

T – температура середовища, °C;

T – оптимальна для процесу температура.

Залежність справедлива при $T \leq 30$ °C.

Оцінка впливу «важких» металів на розвиток популяцій.

Константа інгібування

«Важкі» метали, проникаючи всередину клітини, взаємодіють з білками цитоплазми, утворюючи з ними нерозчинні у воді сполуки, і викликають тим самим їх коагуляцію. «Важкі» метали інактивують ферменти, зв'язуючись із групами активного центру. Наприклад, солі ртуті, срібла, арсену реагують із сульфгідрильними групами, змінюють структуру так званих дисульфідних мостиків і порушують активність ферментів. Ці інгібітори не відрізняються специфічністю, а діють на всі ферменти, що містять сульфгідрильні групи. Аналогічним шляхом (порушуючи структуру дисульфідних мостиків і таким чином – третинну структуру білка) важкі метали викликають денатурацію структурних білків.

Загибель мікроорганізмів при дії «важких» металів настає також у результаті адсорбції позитивно заряджених катіонів негативно зарядженими клітинами бактерій. Крім того, іони металів, особливо срібла, адсорбовані на поверхні бактеріальної клітини, є енергійними каталізаторами в процесі окислення протоплазми киснем. Встановлено, що антимікробна дія важких металів залежить від концентрації іонів металів і від часу впливу їх на мікроби.

У математичних моделях природних біологічних процесів, що відбуваються в умовах техногенного навантаження, і в математичних моделях природоохоронних біотехнологій для кількісного опису дії інгібіторів використовують константу інгібування. Константа інгібування – концентрація інгібітора (наприклад, «важкого» металу), за якої спостерігається 50 % зниження фізіологічної активності біоти.

При розрахунку r і ρ інгібування «важкими» металами обраховується в такий спосіб:

$$r = r_{\max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot \left(\frac{K_{Cu}}{S + K_{Cu}} \right) \cdot \left(\frac{K_{Pb}}{S + K_{Pb}} \right) \cdot \left(\frac{K_{Zn}}{S + K_{Zn}} \right) \cdot K_{[O_2]} \cdot K_t \cdot K_{pH}, \quad (4.16)$$

$$\rho = \rho_{\max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot \left(\frac{K_{Cu}}{S + K_{Cu}} \right) \cdot \left(\frac{K_{Pb}}{S + K_{Pb}} \right) \cdot \left(\frac{K_{Zn}}{S + K_{Zn}} \right) \cdot K_{[O_2]} \cdot K_t \cdot K_{pH}, \quad (4.17)$$

де K_{Cu} , K_{Pb} , K_{Zn} – константи інгібування процесу іонами міді, свинцю, цинку.

Оцінка впливу кисню на розвиток водних популяцій

Вплив концентрації кисню на аеробні мікробні популяції обраховується за рівнянням:

$$r = r_{\max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot \left(\frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}} \right) \cdot K_t \cdot K_{pH}, \quad (4.18)$$

де C_{O_2} – концентрація кисню в середовищі

$$\rho = \rho_{\max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot \left(\frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}} \right) \cdot K_t \cdot K_{pH}. \quad (4.19)$$

У цих рівняннях використовується константа напівнасичення K_{O_2} – концентрація кисню в середовищі, за якої активність процесу дорівнює половині максимальної;

Вплив концентрації кисню на анаеробні мікробні процеси обраховується за рівнянням:

$$r = r_{max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot \left(\frac{K_{iO_2}}{K_{iO_2} + S} \right) \cdot K_t \cdot K_{pH}, \quad (4.20)$$

$$\rho = \rho_{max} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot \left(\frac{K_{iO_2}}{K_{iO_2} + S} \right) \cdot K_t \cdot K_{pH}. \quad (4.21)$$

Для опису цих процесів використовується константа інгібування киснем. Прикладом такого процесу є денітрифікація – процес мікробіологічного відновлення нітратів протонами, що знімаються з органічних сполук, до екологічно безпечної сполуки газоподібного азоту. Денітрифікація дуже поширена в природних водних і ґрунтових екосистемах, а також використовується в біотехнологіях глибокого очищення стічних вод від сполук азоту та обробці висококонцентрованих за вмістом органічних забруднень і нітратів стічних вод. При описі кінетичних показників денітрифікації враховується вплив концентрації нітратів:

$$\rho_{дн} = \rho_{днmax} \left(\frac{S}{K_m + S} \right) \cdot \left(\frac{C_{NO_3}}{K_{mNO_3} + C_{NO_3}} \right) \cdot \left(\frac{K_{iO_2}}{K_{iO_2} + S} \right) \cdot K_t \cdot K_{pH}, \quad (4.22)$$

де $\rho_{дн}$ – питома швидкість перетворення органічного субстрату при денітрифікації;

$\rho_{дн max}$ – максимальна питома швидкість перетворення органічного субстрату при денітрифікації;

C_{NO_3} – концентрація нітратів у середовищі;

K_{NO_3} – константа напівнасичення нітратами.

ТЕМА 5 ЕКОЛОГІЧНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ ПОВІТРООЧИСТКИ І ВОДООЧИСТКИ

Сучасні біотехнології (використання живих організмів, їхніх систем або продуктів життєдіяльності для рішення технологічних задач) спрямовані на рішення глобальних проблем людства – ліквідацію нестачі продовольства, енергії, мінеральних ресурсів, поліпшення стану охорони здоров'я і якості навколишнього середовища. Природоохоронні біотехнології (екобіотехнології) широко використовуються для детоксикації газоподібних, рідких і твердих антропогенних відходів. Вони зосереджені на трьох основних напрямках: деградації органічних і неорганічних токсичних відходів; поновленні ресурсів для повернення в кругообіг речовин вуглецю, азоту, фосфору і сірки; одержанні коштовних видів органічного палива. Розробка, удосконалення, контроль і керування екобіотехнологіями базується на результатах біологічних досліджень, установлених ними закономірностях і виявлених керуючих впливах.

Математичні моделі природних біологічних процесів і біотехнологій набули прикладного застосування, зокрема і при біологічному очищенні стічних вод.

5.1 Біотехнологія очищення газоподібних викидів

На сьогодні для біологічного очищення повітря використовується три основних типи установок: біофільтри, біоскрубери і біореактори з омиваним шаром. Газоподібні сполуки, що підлягають очищенню, проходячи через шар біокаталізатора в установках усіх трьох типів, адсорбуються водним середовищем (плівковою вологою, аерозолем), а потім піддаються мікробіологічній деструкції.

З метою зниження метановиділення з вироблених просторів за допомогою метанотрофних бактерій було запропоновано іммобілізувати

(закріпити) ці мікроорганізми на поверхні гірських порід у цих просторах. Якщо на шляху руху метану з вироблених просторів створити біофільтр за допомогою нанесення на гірські породи суспензії метанотрофів, то ці мікроорганізми протягом доби можуть окислити до 1 200 м³ метану, що внесе істотний вклад у зниження метановиділення на вуглевидобувній ділянці. Для розрахунку концентрації метану в процесі мікробіологічного окислювання (при $\mu_M = \text{const}$) автори цієї біотехнології пропонують таку формулу:

$$S_M(t) = X_{0M} \left[S_{YM} - \frac{1}{Y_M} (e^{\mu_M t} - 1) \right], \quad (5.1)$$

де $S_M(t)$ – концентрація метану у визначений момент часу, г/дм³;

X_{0M} – вихідна концентрація метаноокиснюючої біомаси, г/дм³;

μ_M – питома швидкість росту метаноокиснюючої біомаси, год⁻¹;

S_{YM} – питома концентрація метану, оптимальна для росту мікроорганізмів;

Y_M – економічний коефіцієнт споживання метану, const, (при зольності біомаси приблизно 17 %) $Y_M = 0,76$ г сухої речовини біомаси / г СН₄ мг/мг.

$$S_{YM} = \frac{S_{0M}(t)}{X_{0M}(t)}, \quad (5.2)$$

де $S_{0M}(t)$ – концентрація метану в початковий момент часу, г/дм³;

Концентрацію метану в газоповітряному середовищі виражають у г/дм³ або в об'ємних відсотках. Для перерахунку об'ємних відсотків використовуємо закон Авогадро, згідно з яким маса 1 дм³

$$m_{CH_4} = \frac{M_B \cdot V_{CH_4}}{22,4} \text{ (Г)}, \quad (5.3)$$

де M_B – молекулярна маса СН₄, 16;

V_{CH_4} – об'єм газу – 1 дм³;

22,4 – об'єм, який займає 1 г-моль СН₄, дм³.

Концентрація метану в газоповітряній суміші (г/дм³)

$$S_{i\%} = \frac{S_{i\%} \cdot m_{CH_4}}{100}, \quad (5.4)$$

де $S_{M\%}$ – вміст CH_4 у суміші, об. %.

Підсумкова формула:

$$S_M = \frac{S_{M\%} \cdot M_B \cdot V}{100 \cdot 22,4} = \frac{S_{M\%} \cdot 0,714}{100} \text{ (г / дм}^3\text{)}, \text{ а } S_{\%} = \frac{S_{M\%} \cdot 100}{0,714} \text{ (об \%)} \quad (5.5)$$

Для розрахунку питомої швидкості детоксикації метану метаноокиснюючою біомасою використали рівняння з математичної моделі Байотрит та константи. При описі питомої швидкості біохімічного окислювання метану (ρ_m , мг/г·год) вивели мультиплікативний коефіцієнт, що враховує вплив на кінетику окислювання метану масообміну кисню:

$$\rho_m = \frac{\rho_{\max M} S_M(t) X_M(t) b}{S_M(t) + K_{S_M}} k_2 k_3, \quad (5.6)$$

де ρ_m – питома швидкість окиснення метану, мг/г·год;

$\rho_{\max M}$ – максимальна питома швидкість окиснення метану, мг/г·год;

$X_M(t)$ – концентрація біомаси у визначений момент часу, г/дм³;

b – коефіцієнт пропорційності, const, дм³/г;

K_{S_M} – константа напівнасичення для метану, г/дм³;

k_2 – коефіцієнт інгібування процесу концентрацією кисню;

k_3 – коефіцієнт інгібування процесу масообміном кисню.

$$k = \frac{M}{M + I_n}, \quad (5.7)$$

де M_n – значення масообміну, при якому нагромадження біомаси дорівнює

0,5 оптимальної, 230 мг/м³;

M – установлюваний масообмін, мг/м³.

Стехіометричні, кінетичні, фізіологічні константи та коефіцієнти, необхідні для проведення розрахунків біотехнологічної детоксикації метану наведені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1 – Стехіометричні, кінетичні, фізіологічні константи та коефіцієнти біотехнологічної детоксикації метану

Показники	Розмірність	Значення
Y_m	г/г	0,76
$K_{S,m}$	мг/дм ³	12
$\mu_{max,m}$	діб ⁻¹	3,1
$\rho_{max,m}$	мг/г·год	192
k_T	–	0,03
k_3	–	1
k_2	–	1

5.2 Біотехнології очищення стічних вод

З допомогою біотехнологічних методів обробки стічних вод здійснюється розкладання, мінералізація аеробним або анаеробним шляхом колоїдних, нерозчинених і розчинених речовин, що забруднюють стічні води. Біологічне очищення стічних вод здійснюють різні мікробіоценози – біоплівка, активні аеробні або гранульовані анаеробні мули, спеціально селекціоновані мікроорганізми-деструктори або сформовані в трофічний ланцюг гідробіоценози – у спеціально створених для них умовах у відповідних спорудженнях, де вони інтенсивно розмножуються, споживаючи з води органічні речовини. Крім органічних речовин переробці піддаються деякі неокислені неорганічні сполуки, такі як сірководень, аміак, нітрити. За допомогою біологічних методів зі стічних вод видаляють сполуки фосфору, а органічні осади стічних вод в анаеробних умовах конвертують в енергоносії метан і водень.

За своєю сутністю процеси біологічного окислювання в природних умовах і в очисних спорудженнях аналогічні. Штучні екосистеми очисних споруджень вирізняє висока щільність біонаселення, висока концентрація живильних речовин, можливість підтримки в них оптимальних умов для життєдіяльності організмів біоценозу. У широкому наборі споруджень

біологічного очищення використано більшість відомих метаболічних процесів, властивих мікроорганізмам. Існують спорудження, у яких біоценози розвиваються в аеробних або анаеробних умовах, у мезофільних або термофільних режимах. Біоценози можуть бути представлені переважно гетеротрофними або автотрофними мікроорганізмами.

До систем біологічного очищення стічних вод у природних умовах відносяться поля зрошення, поля фільтрації і біологічні ставки. До штучних методів відносяться спорудження анаеробного розпаду – септики, двох'ярусні відстійники, тенки і спорудження для аеробного розпаду – біологічні фільтри, аеротенки.

Усі ці особливості штучних екосистем у сукупності дозволяють домогтися високої інтенсивності біохімічних процесів в очисних спорудженнях. Анаеробне окислювання органічних компонентів осаду здійснюють за типом шумування (ферментація). Ферментацію називають метановою, тому що метан є одним із кінцевих продуктів процесу.

Схема біологічної очистки стічних вод

Біологічне очищення є основою, серцевиною зовні простого до примітивності, а насправді надзвичайно складного процесу перетворення брудної, токсичної рідини – промислових чи побутових стічних вод – на чисту, екологічно безпечну, біологічно повноцінну воду. Повний набір цього процесу включає такі три стадії (рис. 5.1): 1) первинне – механічне очищення; 2) вторинне – власне біологічне очищення; 3) третинне – фізико-хімічне доочищення стічних вод.

Під час механічного очищення стічна вода (3) проходить крізь решітки (4), де затримуються грубі механічні домішки, потім крізь піскоуловлювач (5), де відокремлюється пісок, і, нарешті, потрапляє у первинні відстійники б, де завдяки силам гравітації все, що важче за воду, осідає на дно, збирається і відкачується в метантенки (1) на зброджування або через певний проміжок часу (іноді один раз за квартал) випускається на мулові майданчики з дренажем (2), а

все, що легше за воду, – підіймається на поверхню води, де згрібається спеціальними пристроями в бункер і теж направляється в метантенк.

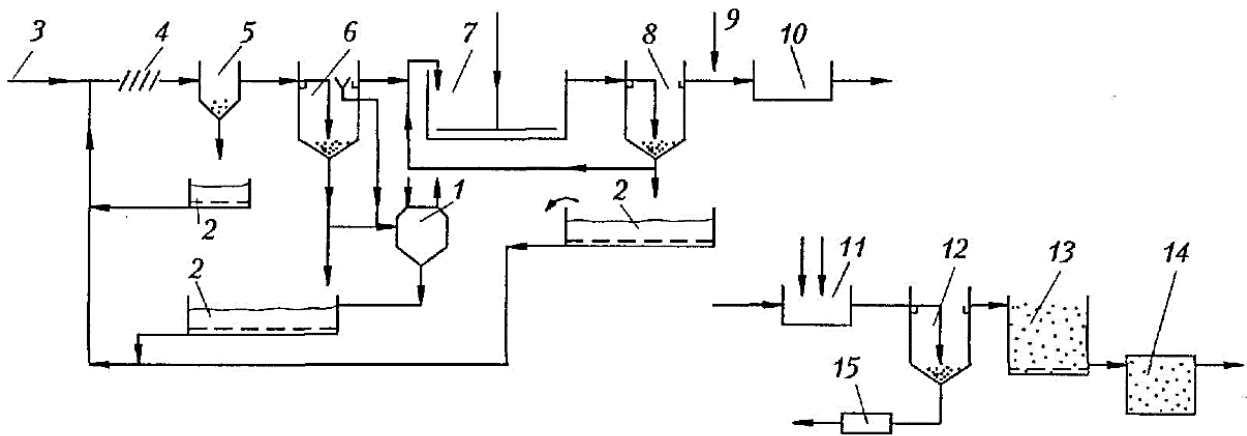


Рисунок 5.1 – Загальна схема очищення стічних вод:

1 – метантенк; 2 – мулові майданчики; 3 – стічна вода; 4 – решітки; 5 – піскоуловлювач; 6 – первинний відстійник; 7 – біореактор (аеротенк); 8 – вторинний відстійник; 9 – ємність для хлорування; 10 – контактний резервуар; 11 – ємність для флокуляції-коагуляції; 12 – відстійник; 13 – піщаний фільтр; 14 – фільтр з активованим вугіллям; 15 – згущувач осаду

Біологічні процеси відбуваються у воді на всіх етапах проходження її крізь очисні споруди. Більше того, вони розпочинаються в момент утворення стічних вод, тривають під час збирання і транспортування цих вод до очисних споруд (у каналізаційних мережах), не припиняються після будь-якого, навіть найбільш ретельного очищення і знезараження води. Стерильної води на поверхні Землі немає і бути не може.

Однак найбільш помітне біологічне очищення стічних вод відбувається саме на другій – біологічній – стадії, де вже згадувані біоплівка, активні аеробні чи гранульовані анаеробні мули, спеціально селекціоновані мікроорганізми-деструктори чи сформовані у трофічній ланцюг гідробіоценози у спеціально створених для них умовах у відповідних спорудах інтенсивно розмножуються, споживаючи з води органічні сполуки та інші речовини, які ми розглядаємо як забруднення. Біомасу гідробіонтів, що наростає під час очищення води, відділяють у так званих вторинних відстійниках 8, звідки її подають або в метантенки/або на мулові майданчики (2).

Третинне очищення води полягає в основному у спробі знезаразити воду – знищити можливо наявні в ній епідемічно небезпечні організми та вібріони (збудники захворювань травного каналу – холери, дизентерії, гепатиту тощо). Для цього використовують переважно хлорування, іноді – опромінювання ультрафіолетовим світлом, ще рідше – озонування. У разі обробки очищених стічних вод хлором 9 їх витримують протягом 20–30 хв у контактних резервуарах (10), після чого скидають у відкриті водойми.

Експериментально доведено, що така обробка води, яка містить значні кількості (десятки міліграмів у літрі) органічних речовин (а сюди належать усі без винятку, навіть найретельніше очищені стічні води і переважна більшість поверхневих природних вод) призводить до утворення найрізноманітніших хлорорганічних речовин – від не дуже шкідливого хлороформу до надтоксичних діоксинів, серед яких трапляються дуже активні і смертельно небезпечні мутагени. Тому деякі вчені вважають хлорування стічних вод абсолютно неприпустимим, навіть злочинним актом. Для повного, надійного і безпечного доочищення води у світі розробляються різноманітні схеми, найтиповіша з яких включає процеси обробки флокулянтами і коагулянтами (11), відстоювання (12), фільтрування крізь пісок (13) і, нарешті, крізь активоване вугілля (14). Осади, що утворюються внаслідок коагулювання і відстоювання, згущують на центрифугах, фільтр-пресах чи барабанних вакуум-фільтрах (15) і складують у балках, яругах чи на звалищах.

Активний мул

Очистку стічної води в аеробних умовах здійснюють у спорудах двох основних модифікацій: в аеротенках з активною біомасою (активний мул) (рис. 5.2), завислою у воді або в біофільтрах, де активна біомаса (біоплівка) прикріплена до зерен інертного завантаження.

Активний мул є автофлокульованою біомасою бактерій, актиноміцетів, грибів і найпростіших, у якій домінують капсульні, грамнегативні, паличковидні, монотрихальні бактерії *Zoogloea ramigera*, а найчастіше –

бактерії роду *Pseudomonas*. Крім них, мул населяють представники родів *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Sarcina*, *Mycobacterium* та багатьох інших, а також *Actinomyces*, гриби родів *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*.

Широко представлені в активному мулі найпростіші – джгутикові (*Mastigophora*), саркодові (*Sarcodina*), війчасті (*Ciliata*) та сисні (*Suctoria*) інфузорії (*Infusoria*). Найпростіших, нематод, коловерток, ракоподібних та інших безхребетних тварин традиційно розглядають як «супутні організми», які в кращому разі «є показниками доброї роботи очисної системи».

Склад мікрофлори і мікрофауни мулів формується залежно від екологічних умов, основними з яких є склад стічних вод, що обробляються, рівень розчиненого кисню, температура, рН, співвідношення кількості їжі та мікроорганізмів, наявність токсичних речовин тощо.

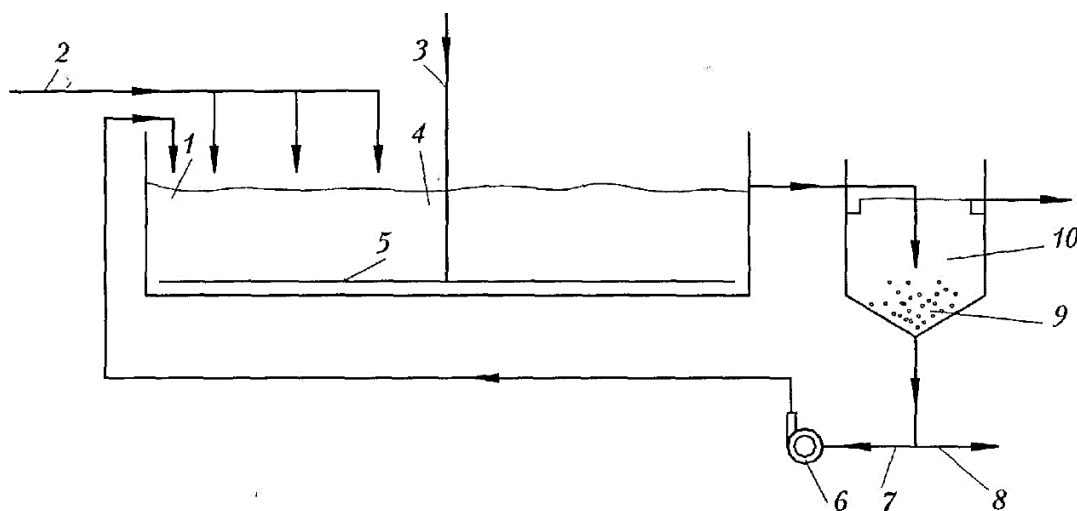


Рисунок 5.2 – Аеротенк:

1 – регенератор; 2 – стічна вода; 3 – повітря; 4 – аеротенк; 5 – пристрій для розпилювання повітря; 6 – насос; 7 – зворотний мул; 8 – надлишковий мул; 9 – осад активного мулу; 10 – відстійник

Біонаселення активного мулу і біоплівки утворює складний біоценоз, представлений бактеріями, найпростішими, грибами, водоростями і деякими багатоклітинними організмами, такими як коловертки, черв'яки, личинки комах.

Основну роль у процесах окиснення органічних і деяких неорганічних домішок стічних вод відіграють бактерії. Загальна кількість їх в активному мулі досягає 10^8 – 10^{14} клітин на 1 г сухої речовини. До числа найпоширеніших видів бактерій відносяться псевдомонади. Метаболічні групи бактерій, що населяють активний мул, представлені в таблиці 5.2.

У мулі аеротенків, який добре працює, зазвичай знаходять 10–15 видів найпростіших, з досить рівномірно представленими або з незначним переважанням 1–2 видів. У такому мулі зрідка виявляються дрібні амеби і джгутикові, в основному розвиваються різноманітні інфузорії з переважанням черевійчастих і коловійчастих.

Таблиця 5.2 – Метаболічні групи бактерій в активному мулі

Метаболічні групи	Форма споживання вуглецю	Джерело енергії	Акцептор електронів	Форма росту
Органотрофи	Органічна	Кисневе окислювання	O ₂	FF, FIL
Анаеробні ферментатори	Органічна	Ферментація	Орг. С	FF
Денітрифікатори	Органічна	Безкисневе окислювання	NO ₃ -N	FF, FIL
Нітрифікатори	Неорганічна	Кисневе окислювання, NH ₄	O ₂	Прикріплений
Поліфосфатні (фосфоракумулюючі)	Органічна	PP або OSP	-/O ₂	Рунистий, FIL
S-окислюючі	Неорганічна	Кисневе окислювання	O ₂	FIL, FF
SO ₄ -, що редукують	Органічна	Безкисневе окислювання	SO ₄ -S	FF
Примітка. FF – мікроорганізми, що утворюють флоки; FIL – нитчасті мікроорганізми.				

Будь-яке порушення в роботі аеротенків призводить до зниження числа видів найпростіших, переважанню одного або двох видів, до зміни розміру і рухливості організмів. Наприклад, при нестачі в споруді кисню переважний розвиток отримують найпростіші, здатні існувати в умовах кисневого дефіциту. Це в основному джгутикові, з інфузорій розвивається інфузорія-туфелька. Вортицели відриваються від стебла і роздуваються. У коловійчастих інфузорій вийчастий диск замкнутий.

Активний мул має вигляд пластівцеподібної маси із середнім розміром пластівців 1–4 мм. Він має дуже розвинену поверхню, яка становить близько 100 м² на 1 г сухої речовини, що обумовлює його велику адсорбційну здатність. Завдяки такій значній поверхні активного мулу вже через кілька хвилин контакту його зі стічною водою основна маса забруднень виявляється сорбованою пластівцями мулу. Активний мул має високу гідролітичну активність. Завдяки дії екзоферментів на поверхні клітин утворюється складний комплекс вихідних речовин, ферментів і продуктів ферментативного гідролізу. Останні переносяться всередину клітини, де і відбувається їх окиснення. Процеси окиснення часто протікають значно повільніше, ніж вилучення речовин зі стічної води пластівцями мулу. У цьому випадку можна після невеликого періоду аерації відокремити мул від води і продувати його повітрям без подачі поживних речовин (стічної води). Такий процес називають регенерацією активного мулу, під час якої мул відновлює свою біохімічну активність. У процесі регенерації окислюються коагульованими мулом колоїдні і нерозчинні домішки і продовжується розвиток бактеріальної культури, що призводить до збільшення числа життєздатних клітин.

Для гетеротрофних бактерій активного мулу забруднення стічних вод одночасно служить джерелом і енергії, і основних біогенних елементів для синтезу клітинної речовини.

При морфологічній оцінці якості пластівців активного мулу необхідно враховувати наявність популяцій нитчастих бактерій. Високий індекс нитчастих створює більше проблем, ніж присутність у мулі великої кількості

клітин, що вільно живуть. Д. Ейкельбумом запропоновано визначати якість активного мулу за сумою характеристик (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 – Критерії для встановлення якості активного мулу (за Eikelboom D.H.)

Показники	Добрий	Задовільний	Поганий
Індекс нитчастих	< 3	3–4	4–5
Вільно живучі клітини	0	1	≥ 2
Співвідношення війчасті : амеби	0–1	2–3	≥ 3
Джгутикові : амеби	0	1–2	≥ 3
Відсотковий вміст пластівців > 25μm	> 80–90	> 50–70	< 50
Структура пластівців	Компактна	Відкрита	–
Щільність пластівців	Щільна	Слабка	–
Форма пластівців	Кругла	Неправильна	–

Моделювання процесів у біотехнологіях очистки стічних вод

Найбільш точними прогностичними властивостями, що дозволяють одержати коректні результати в широкому діапазоні умов проведення процесу біологічної очистки, володіють математичні моделі. Математична модель роботи активного мулу – activated sludge model (ASM) дозволяє одержати кількісну характеристику маси бактерій активного мулу, які відповідають за процес біологічного видалення органічних та неорганічних сполук.

Після публікації Міжнародною водною асоціацією – International water association (IWA) моделей активного мулу Activated Sludge Models (ASM) – ASM1, ASM2, ASM2d, ASM3, ASM3+Bio-P, які включають нітрифікацію, денітрифікацію та біологічне видалення фосфору, застосування цих моделей для систем з активним мулом стає усе більш і більш популярним. Істотним внеском в ASM1 є концепція загибель–регенерації, щоб описати реакції, такі як загибель (припинення обміну речовин), гідроліз (деградація компонентів протоплазми клітини), і ріст (синтез нових мікроорганізмів), що відбуваються

під час ендогенної фази. Є загальноприйнятим, що швидкість гідролізу визначає повну швидкість деградації макрочасток органічних речовин, тому що ця швидкість набагато менша за швидкості інших процесів.

Останнім часом значного поширення набули методи комп'ютерної симуляції та моделювання (наприклад, ASIM, BioWin, GPS-X, SIMBA, STOAT та WEST), включаючи і методи з використанням штучного інтелекту. Вони дозволяють оптимізувати наявні очисні станції задля зниження витрат на обслуговування або підвищення ефективності очистки стічних вод. Більш примітивні моделі мають значні переваги в їх простоті, нижчій вартості, відносно високій ефективності.

Основні біокінетичні константи, які використовують при проведенні розрахунків за моделями ASM, наведені в таблиці 5.4.

Отже, можна стверджувати, що комп'ютерне моделювання на сьогодні стає невід'ємним методом для проєктування біотехнологій очищення стічних вод міст та підприємств.

Таблиця 5.4 – Значення кінетичних і фізіологічних констант біотехнологій очистки субстратів

Константи	Біоценоз		
	Аеробний		Анаеробний
	Активний мул, що окиснює органічні речовини – ХСК	Активний мул нітрифікуючий (що окиснює NH_4^+)	Активний мул денітрифікуючий (відновлюючий NO_3^-)
K_I – константа напівнасичення киснем – концентрація кисню в середовищі, при якій активність процесу дорівнює половині максимальної, мг/дм ³	0,2	0,8	–
K_S – константа напівнасичення субстратом – концентрація субстрату, при якій активність процесу дорівнює половині максимальної, мг/дм ³	20,0 (10 по БПК)	1,5	1,5 – по NO_3^- 12 – по ХПК
K_i – константа інгібування – концентрація кисню в середовищі, при якій активність процесу знижується вдвічі порівняно з максимальною, мг/дм ³	–	–	0,6
рН оптимальний $K_{IL1}, K_{IL2}, K_{II1}, K_{II2}$	7,2 6,0; 3,0; 8,2; 9,2	8,0 5,8; 4,8; 9,7; 10,0	7,5 6,5; 3,5; 8,5; 9,6
T – оптимальна для процесу температура, град С	22	24	25
$K_{Cu}, K_{Cr}, K_{Zn}, K_{Ni}$ – константи інгібування процесу іонами міді, хрому, цинку, нікелю, мг/дм ³	1,1; 7,5; 2,6; 4,6	0,3; 4,5; 1,6; 2,6	1,1; 7,5; 2,6; 4,6
$K_{ХПК}, K_{неф}$ – константи інгібування нітрифікації органічними речовинами (ХСК) і нафтопродуктами, мг/дм ³	–	40, 3,0	–
ρ_{max} – максимальна питома швидкість перетворення субстрату, мг(Г·ГОД) ⁻¹	140 (100 по БСК)	50	102 (ХСК)
Γ_{max} – максимальна питома швидкість росту популяції, діб ⁻¹	3,0	0,8	5,0

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Пляцук Л. Д. Екологічна біотехнологія: принципи створення біотехнологічних виробництв : навч. посіб. / Л. Д. Пляцук ; Сумський державний університет. – Суми : СДУ, 2018. – 293 с.
2. Біотехнології в екології : навч. посіб. / А. І. Горова, С. М. Лисицька, А. В. Павличенко, Т. В. Скворцова ; Національний гірничий університет. – Дніпро : НГУ, 2012. – 184 с.
3. Пляцук Л. Д. Процеси та апарати природоохоронних технологій : підручник : у 2 т. / Л. Д. Пляцук, Р. А. Васькін, В. П. Шапорев ; Сумський державний університет. – Суми : СДУ, 2017. – 205 с.
4. Природоохоронні технології. Ч. 1. Методи очищення стічних вод : навч. посіб. / Л. І. Северин, В. Г. Петрук, Л. І. Северин, І. І. Безвозюк та ін. ; Вінниця : ВНТУ, 2014. – 267 с.
5. Екологічна біотехнологія / О. В. Швед, О. Б. Миколів, О. З. Комаровська–Порохнявець, В. П. Новіков. – Львів : Львівська політехніка, 2010. – 792 с.
6. Чернякова О. І. Методи захисту атмосфери : конспект лекцій / О. І. Чернякова. – Одеса : ОДЕКУ, 2019. – 89 с.
7. Biological Wastewater Treatment. Principles, Modelling and Design / Guanghao Chen, George A. Ekama, Mark C.M. van Loosdrecht, Damir Brdjanovic. – London : IWA Publishing, 2023. – 89 p.
8. Єсін М. А. Інтенсифікація роботи споруд для очистки стічних вод від сполук азоту та фосфору : автореф. дис. ... канд. техн. наук : 05.23.04 – водопостачання, каналізація / Єсін Михайло Андрійович ; ХНУБА. – Харків, 2014. – 24 с.
9. Смирнов О. В. Інтенсифікація біологічної очистки стічних вод від сполук фосфору : автореф. дис. ... канд. техн. наук : 05.23.04 – водопостачання, каналізація / Смирнов Олександр Володимирович ; ХНУБА. – Харків, 2021. – 23 с.

Електронне навчальне видання

ЮРЧЕНКО Валентина Олександрівна
МЕЛЬНИКОВА Оксана Григорівна

БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЗАХИСТІ ДОВКІЛЛЯ

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ

*(для здобувачів третього (освітньо-наукового) рівня вищої освіти
денної та заочної форм навчання зі спеціальності 183 – Технології
захисту навколишнього середовища)*

Відповідальний за випуск *Т. В. Дмитренко*

Редактор *М. О. Гаман*

Комп'ютерне верстання *Є. Г. Панова*

План 2024, 42Л

Підп. до друку 19.03.2024. Формат 60 × 84/16.
Ум. друк. арк. 3,2.

Видавець і виготовлювач:

Харківський національний університет
міського господарства імені О. М. Бекетова,
вул. Маршала Бажанова 17, Харків, 61002.

Електронна адреса: office@kname.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:

№ ДК 5328 від 11.04.2017.