

УЛЬТРАФІЛЬТРАЦІЙНА ОЧИСТКА ВОДИ ВІД БАРВНИКІВ НА БІОКАТАЛІТИЧНИХ МЕМБРАНАХ

Показано можливість одержання біфункціональних мембран із біокаталітичними властивостями і використання їх у процесах доочистки стічних вод від синтетичних барвників. Розроблено спосіб іммобілізації біокаталізатора на полімерних ультрафільтраційних мембранах. Визначено оптимальні умови введення цілих клітин мікроорганізмів у полімерну матрицю. Встановлено, що придатними для такого способу є спорові культури через їх здатність виживати в несприятливих умовах, а також спеціально селекціоновані культури мікроорганізмів. Для ефективності процесу деструкції при ультрафільтрації розчинів барвників через біокаталітичну мембрану необхідне оптимальне сполучення всіх параметрів. У нашому випадку максимальний ступінь конверсії барвника вофаланового червоного досягався при швидкостях об'ємного потоку $< 20 \text{ л/м}^2 \text{ год}$, на мембрані, що отримували із 20%-ного розчину сульфованого полісульфону, в який додавали $0,25 \text{ г/см}^3$ вологої біомаси.

Очистка стічних вод, що містять синтетичні барвники, є однією з найважливіших екологічних проблем. Ефективна очистка вод такого типу досягається переважно в результаті поєднання різних фізико-хімічних методів [1]. У практиці водоочищення все ширше використовуються мембранні методи розподілення. Незважаючи на високий ступінь затримки синтетичних барвників у процесах нано- і ультрафільтрації, залишкові концентрації барвників в очищеній воді в більшості випадків перевищують припустимі значення [2, 3], що вимагає її доочистки. Селекціонування культур мікроорганізмів, здатних руйнувати синтетичні барвники, дозволило використовувати і біологічні методи очистки для знешкодження стічних вод [4, 5]. Так, деякі штами бактерій родів *Bacillus* і *Pseudomonas* ефективно руйнують барвники при концентраціях до 100 мг/л [6]. Водночас мембранні процеси все частіше застосовуються для створення мембранних біореакторів [7, 8]. У таких біореакторах мембрани використовуються для рециркуляції біокаталізаторів або як їх носії. Нами був розроблений метод іммобілізації цілих клітин мікроорганізмів шляхом включення їх в полімерну матрицю [9].

Метою даної роботи є дослідження процесу біокаталітичної деструкції барвників клітинами-деструкторами синтетичних барвників при їх трансмембранному переносі. Використання таких мембран у процесі очистки стічних вод, що містять барвники, дозволяє виключити деякі недоліки нано- і ультрафільтраційного розподілення, а саме: дає можливість уникнути забруднен-

ня мембран барвниками внаслідок їх біологічної деструкції на поверхні мембрани, а також забезпечує додаткову очистку води від барвників у потоці, що проходить через мембрану.

Матеріали і методи

Поживне середовище і мікроорганізми

У роботі була використана культура мікроорганізмів-деструкторів синтетичних барвників *Bacillus subtilis* [5]. Мікроорганізми вирощували на агаризованому синтетичному середовищі такого сольового складу (г/л): K_2HPO_4 — 0,1; Na_2HPO_4 — 0,15; NH_4Cl — 0,2; MgSO_4 — 0,1; KCl — 0,4; м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) — 0,1 %.

У якості єдиного джерела вуглецю в середовищі використовували вофоланові барвники в масовій частці 100 мг/л .

Вирощену культуру бактерій відмивали шляхом триразового центрифугування фізіологічним розчином при 8000 об./хв упродовж 15 хв. Відмиту біомасу клітин вносили в органічний розчинник, який розчиняє мембраноутворюючий полімер, і ретельно перемішували до одержання рівномірної суспензії.

Для контролю за біокаталітичним процесом при ультрафільтрації через мембрану, а також для вивчення впливу мікробних тіл на структуру мембран у процесі їхнього формування використовували вбиті клітини, які одержували опроміненням шару суспензії завтовшки 1 см ультрафіолетовим світлом протягом $0,5 \text{ год}$. Щільність суспензії становила 10^8 — 10^9 клітин/мл. Опромінювали ртутною лампою низького тиску ДБ-15

на відстані 20 см від шару, що опромінювався. Після опромінення проводився контрольний посів із суспензії на повноцінне поживне середовище для підтвердження повної загибелі клітин.

Формування мембран

Мембрани були отримані методом мокрого і сухо-мокрого формування з розчину мембраноутворюючого полімеру сульфатованого полісульфону [10], що містить клітини в суспендованому стані. Полімерний розчин за допомогою щільної фільтри рівномірним шаром наносили на скло (товщина шару 200 мкм) і осаджували дистильованою водою або водним розчином хлориду калію концентрацією 8 мас. % безпосередньо після нанесення шару або після витримування на повітрі при кімнатній температурі протягом 15 хв.

Для одержання розчину формування мембран суспензію культури мікроорганізмів в органічному розчиннику змішували з розчином полімеру. Приготовлений розчин перед формуванням дегазували протягом 1 години [9].

Транспортні характеристики та біокаталітична активність мембран

Транспортні характеристики отриманих мембран і біокаталітичну деструкцію барвників досліджували в установці непроточного типу з використанням термостатування і перемішування об'ємом 0,15 дм³ і площею мембрани 22,410⁻³ м². Робочий тиск регулювали в межах від 0,002 до 0,05 МПа. Робоча температура 30 °С.

Досліджувалася деструкція барвника вофланового червоного. Розчини барвників у концентрації 20 г/л фільтрували при різних тисках (швидкостях трансмембранного потоку) до ступеня відбору пермеата 80 %. Після фільтрації концентрацію барвника визначали як у пермеаті, так і в концентраті. Біокаталітичну ефективність отриманих мембран виражали в термінах ступеня біокаталітичної деструкції (α):

$$\alpha = \frac{\text{кількість деструктованого барвника}}{\text{кількість введеного барвника}}$$

Аналітичні методи

Концентрацію барвника вимірювали фотоколометрично за калібровочним графіком при довжині хвилі 560 нм.

Результати та їх обговорення

Імобілізація живих клітин мікроорганізмів, як правило, вимагає м'яких умов і її проводять переважно із використанням водних суспензій культур. Це визначило застосування водорозчинних полімерів для включення мікроорганізмів у полімерні матеріали (плівки, волокна). Такі

матеріали є гідрогелями, вони мають слабку механічну міцність і практично не можуть бути використані в умовах механічних впливів (тиск, примусовий потік розчину тощо).

Літературні дані дають обмежену інформацію про включення цілих клітин у мембрани із синтетичних водонерозчинних полімерів шляхом мокрого формування [11, 12]. Їхнє використання дозволяє одержати напівпроникні мембрани у вигляді порожнинних волокон і листів для проведення біокаталітичних процесів в умовах конвективного трансмембранного переносу. Так, нами були одержані біокаталітичні мембрани з розчину полімеру сульфатованого полісульфону із включеними в їх полімерну матрицю бактеріями — деструкторами синтетичних барвників [9]. Вивчення фізіологічного стану іммобілізованих в полімерній мембрані клітин показало, що не всі роди бактерій можуть бути використані як біокаталізатори. На життєздатність клітин в процесі формування мембран найбільш шкідливо впливає органічний розчинник, що використовується в якості розчинника мембраноутворюючого полімеру. Тому для такого способу іммобілізації можна використовувати бактерії, які мають спорову форму, завдяки чому зберігають життєздатність в несприятливих умовах. У нашому випадку — в середовищі органічного розчинника метилпірролідону (МП). Дослідження клітин за допомогою оптичного мікроскопа показало, що МП не спричиняє лізис клітин або денатурацію білка. Таким чином, для формування біокаталітичних мембран із включеними клітинами *Bacillus subtilis* можна використовувати метилпірролідон у якості розчинника мембраноутворюючого полімеру. Показано, що збільшення кількості клітин у суспензії підвищує їх виживання за рахунок введення великої кількості білка, що створює для біокаталізатора захисну оболонку [13], а також впливає на біокаталітичну активність мембран. Збереження життєздатності клітин протягом 1 години дозволяє проводити дегазацію розчину формування.

Деструкція синтетичних барвників при фільтрації

Для дослідження впливу пористої структури на біокаталітичні властивості мембран були отримані мембрани з різною гідравлічною проникністю при однаковій кількості іммобілізованої культури мікроорганізмів *Bacillus subtilis*. Параметрами, що впливають на характеристики пористої структури, є концентрація мембраноутворюючого полімеру у розчині формування і час передформування (див таблицю). Для

Таблиця

Вплив умов формування біокаталітичних мембран на їх гідравлічну проникність по воді

Мембрана	Концентрація полімеру у формувальному розчині, мас. %	Час передформування, хв	Проникність по воді, л/м ² ·год ΔP=0,5 атм
M1	20	15	40,76
M2	20	0	18,75
M3	20	0	62,5
M4	20	0	31,25

Примітки: осаджувач — 8%-ний водяний розчин KCl; робочий тиск при визначенні проникності — 0,05 МПа.

контролю була отримана мембрана з введенням неживих клітин.

При ультрафільтрації розчину барвника на мембрані з іммобілізованими неживими клітинами (мембрана M4) сумарна кількість барвника в розчині над мембраною і фільтраті дорівнює кількості введеного барвника, тобто при ультрафільтрації на мембрані з іммобілізованими неживими клітинами деструкції барвника не відбувається. При цьому ступінь затримки барвника на мембрані M4 становить приблизно 85%. Отже, отримані мембрани мають напівпроникні характеристики стосовно досліджуваних барвників. Пориста структура мембран забезпечує часткову затримку барвників, тобто вони можуть бути віднесені до ультрафільтраційних [14].

Оскільки отримані біокаталітичні мембрани лише частково затримують барвники, то при ультрафільтрації їх розчинів частина молекул барвника потрапляє в пори мембрани і транспортується через мембрану. При цьому під впливом іммобілізованих клітин відбувається деструкція молекул барвника. Деструкція барвника повинна відбуватися й у розчині над мембраною під впливом іммобілізованих на поверхні клітин.

Характерною рисою ультрафільтрації синтетичних барвників є зниження ступеня затримки при збільшенні трансмембранного потоку, що є наслідком орієнтації молекул барвника в потоці розчинника [15]. Таким чином, концентрація барвника в порах мембрани залежить як від коефіцієнта розподілу барвника в розчині та мембрані, так і від швидкості трансмембранного потоку. Час перебування барвника в зоні реакції (об'єм мембрани) також регулюється швидкістю потоку.

Як показано на рис. 1, ступінь біокаталітичної деструкції синтетичного барвника знижується при збільшенні швидкості трансмембранного потоку і залежить від пористої структури мембрани. При однакових швидкостях трансмембранного потоку час перебування барвника в зоні реакції однаковий для різних типів мембран, і ефективність біокаталітичної деструкції, мабуть, визначається макроскопічною структурою мембрани, що повинна сприяти контактам молекул барвника з іммобілізованими клітинами. Прямої

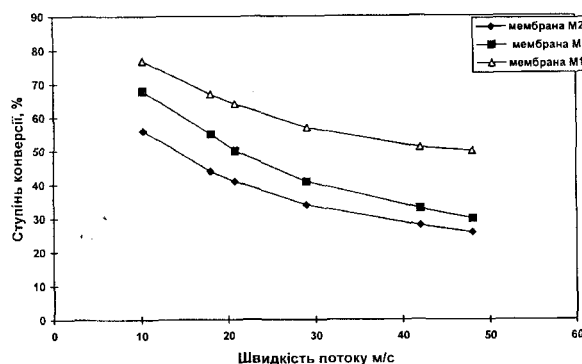


Рис. 1. Залежність ступеня конверсії барвника вофоланового червоного з початковою концентрацією 10 мг/л від швидкості об'ємного потоку через мембрану після одного циклу ультрафільтрації для різних біокаталітичних мембран

кореляції між гідравлічною проникністю мембрани і ефективністю деструкції барвника на досліджуваних мембранах не виявлено (рис. 1). Найбільш ефективною із серії отриманих мембран є мембрана M1 із проміжною гідравлічною проникністю. Знижена ефективність деструкції більш проникної мембрани M3 порівняно з мембраною M1 може бути пояснена можливістю переносу барвника в ядрі потоку при транспортуванні крізь ширші пори без контакту з біокаталізатором. Несподіваною є низька ефективність деструкції на мембрані з найменшою гідравлічною проникністю. Можливо, у мембрані з такою структурою частина клітин стає недоступною для субстрату.

Зниження коефіцієнта затримки барвника зі збільшенням трансмембранного потоку повинно призвести до зменшення ступеня концентрування (концентрацію) барвника в розчині над мембраною при однакових ступенях відбору пермеату. Однак, як показано на рис. 2, концентрація барвника над мембраною збільшується, починаючи тільки зі швидкостей трансмембранного потоку близько 20 л/м²·год. При низьких швидкостях трансмембранного потоку деструкція барвника іммобілізованими на поверхні клітинами компенсує ефект концентрування барвника за рахунок затримуючих властивостей мембрани. При більш високих значеннях трансмембранного потоку швидкість збільшення кон-

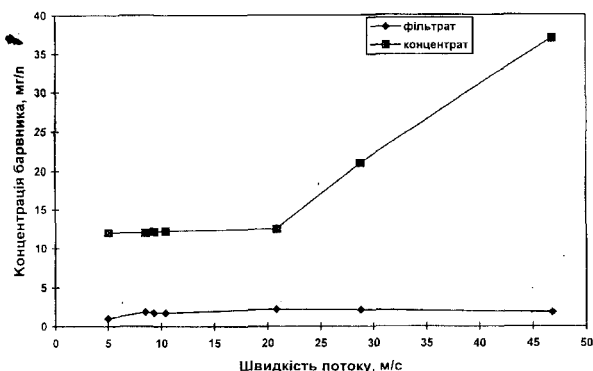


Рис. 2. Залежність концентрації барвника вофоланового червоного над мембраною і в загальному об'ємі фільтрату від швидкості трансмембранного потоку. Ступінь відбору фільтрату — 80%. Початкова концентрація барвника — 12 мг/л

центрації барвника в розчині над мембраною перевищує швидкість його деструкції іммобілізованими на поверхні мембрани клітинами.

Висновки

Розроблено спосіб одержання біокаталітичних мембран із синтетичного полімеру сульфонованого полісульфону із включенням у їхню структуру цілих клітин бактерій *Bacillus subtilis* — деструкторів синтетичних барвників. Клітини *Bacillus* у споровій формі характеризуються повним виживанням в органічному розчиннику метилпірролідоні. Це дозволяє формувати мембрани з розчину синтетичного полімеру в органічному розчиннику, що містить цілі клітини.

Отримані мембрани належать до класу ультрафільтраційних і проявляють часткову затримку синтетичних вофоланових барвників. Установлено, що біокаталітична деструкція відбувається в порах мембрани, а також в об'ємі над мембраною клітинами, іммобілізованими на поверхні мембрани. Ступінь біокаталітичної деструкції залежить від швидкості трансмембран-

ного потоку розчину через мембрану, що обумовлено зміною часу перебування барвника в зоні реакції і концентрацією барвника в порах мембрани внаслідок впливу трансмембранного потоку на затримку барвника.

Залежно від швидкості трансмембранного потоку реалізуються два режими обробки розчину барвника. При невеликих швидкостях трансмембранного потоку (для досліджуваних мембран до 20 л/м²·год) у розчині над мембраною концентрація барвника не збільшується і пермеат цілком знебарвлений. Цей режим роботи варто застосовувати для створення мембранного біореактора доочистки стічних вод, що містять барвники. У результаті обробки стічних вод у такому біореакторі утворюється знебарвлена вода, і процес не супроводжується утворенням концентратів барвника, які необхідно переробляти.

При більш високих швидкостях трансмембранного потоку барвник концентрується в розчині над мембраною внаслідок перевищення швидкості накопичення барвника над швидкістю його деструкції іммобілізованими на поверхні клітинами. Даний режим може бути використаний на ділянках локальної очистки стічних вод, що містять один барвник, з метою його концентрування і повторного використання. Клітини, іммобілізовані в порах мембрани, забезпечують деструкцію молекул барвника, що потрапляють у пори, в результаті чого відбувається знебарвлення пермеату.

Слід зазначити, що при обох режимах обробки деструкція барвника відбувається також і на поверхні мембрани під дією поверхнево іммобілізованих клітин, що запобігає забрудненню мембран агрегатами синтетичного барвника.

1. Запольський А. К., Клименко Н. А., Брик М. Т., Гвоздяк П. Л., Князькова Т. В. Фізико-хімічні основи очистки стічних вод.— К.: Лібра, 1999.— 173 с.
2. Очистка окрашенных сточных вод текстильных предприятий. Баромембранное концентрирование ванн крашения / И. Б. Иваненко, О. Р. Щендрик, М. И. Пономарев // Химия и технология воды.— 1993.— 15, № 9—10.— С. 641—646.
3. Erswell A., Brouckaert C. J., Buckley C. A. The reuse of reactive dye liquors using charged ultrafiltration membrane technology // Desalination.— 1988.— 70.— P. 157—167.
4. Удод В. М. Биологическая очистка сточных вод от красителей // Химия и технология воды.— 1980.— 2, № 5.— С. 466—471.
5. Микробная очистка сточных вод камвольно-суконного производства / О. Ф. Удилова, В. В. Лубенец, П. И. Гвоздяк // Химия и технология воды.— 1994.— 16, № 3.— С. 301—308.
6. Микробное разрушение красителя активного ярко-красного 5CX / В. М. Удод, Л. И. Несынова, Г. Н. Дмитренко // Микробиологический журнал.— 1983.— 45, № 4.— С. 36—39.
7. Belfort J. G. Membrane and bioreactors: a technical challenge in biotechnology // Biotechnol. and Bioeng.— 1989.— 33, N 8.— P. 1047—1066.
8. Development of a membrane bioreactor for wastewater treatment / I. Diestre, A. Urkiaga, M. Gutierrez, J. Etxebaria, L. De las Tuentas // EUROMEMBRANES 99.— II.— P. 235.
9. Формування біокаталітичних мембран для ультрафільтраційної очистки води від барвників / В. В. Конової, М. Т. Брик, Р. Р. Нігматуллин, П. І. Гвоздяк, О. Ф. Удилова // Доповіді НАН України.— 2000.— 33, № 1.— С. 21—25.
10. Noshay A., Robeson L. M. Sulfonated polysulfone // J. Appl. Polym. Sci.— 1976.— N 20.— P. 1885—1903.
11. Catarano G., Iorio G., Drioli E., Filosa M. Experimental analysis of a cross-flow membrane bioreactor with entrapped whole cells: influence of transmembrane pressure

- and substrate feed concentration of reactor performance // J. Membr. Sci.— 1988.— 35, N 3.— P. 325— 338.
12. *Drioli E., Jorio G., De Rosa M., Gambacorta A.* High-temperature immobilized-cell ultrafiltration reactors // J. Membr. Sci.— 1982.— 11, № 3.— P. 365—370.
13. *Удиллова О. Ф., Кривец И. А.* Действие додецилсульфата натрия на оптическую плотность и выживаемость *Pseudomonas aeruginosa* 1С-деструктора алкилсульфатов // Микробиологический журнал.— 1983.— 45, № 1.— С. 12—15.
14. *Брык М. Т., Цапюк Е. А.* Ультрафильтрация.— К.: Наукова думка, 1989.— 287 с.
15. Ультрафильтрационное разделение водных и водно-солевых растворов красителя "кислотного черного С"/ *Е. А. Цапюк, М. Т. Брык, И. П. Сапон* // Коллоидный журнал.— 1998.— 51, № 1.— С. 197—203.

*Konovalova V. V., Bryk M. T., Nigmatullin R. R.,
Gvozdyak P. L., Udilova O. F.*

ULTRAFILTRATION TREATMENT OF WASTEWATER CONTAINING DYES ON BIOCATALYTIC MEMBRANES

A possibility to prepare the biofunctional membranes showing the biocatalytic properties and use those in post-treatment of wastewater containing synthetic dyes have been established. Selected *Pseudomonas mendocina* and *Bacillus subtilis* cultures were used as biocatalysts for dye destruction. It has been established that cells in spore form are able to survive in N-methylpyrrolidone that allow to use method of polymer solution casting for membrane preparation. The optimal conditions for an entrapping of whole cells of microorganisms into the polymer matrix have been determined. Membrane biocatalytic activity has been studied depending on method of casting solution preparation, biocatalyst loading and operating parameters. Dye destruction occurs both in membrane pores and on membrane surface. Membrane obtained provide discolouring of treated solutions (permeate). The dye concentration in retentate depends on the trans-membrane fluxes. The concentration in retentate do not be observed at relatively low fluxes (up to 20 l/m²* h).