

ISSN 0204-3556

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ВОДЫ

Ученые и инженеры
в области химии и
технологии воды

1

2013

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ

ОТДЕЛЕНИЕ ХИМИИ

Институт коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ВОДЫ

Том 35, №1(231), январь – февраль 2013

JOURNAL OF WATER CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

Volume 35, Number 1(231), January – February 2013

МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

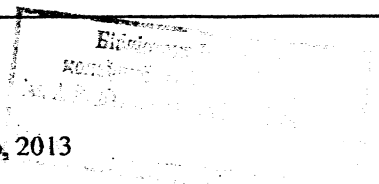
Основан в сентябре 1979 г. Выходит 1 раз в 2 месяца

Журнал включен в мультидисциплинарную реферативную базу оценки частоты цитирования SCOPUS, которая включает в себя рефераты более 28 млн. статей из 15000 журналов 4000 издательств (52% из них – европейские)

INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND TECHNICAL JOURNAL

Founded in September 1979. Publishing 1 time in 2 months

Journal included in multidisciplinary abstracts base on estimating the frequency quoting SCOPUS, which includes abstracts of more than 28 million articles from 15,000 journals of 4000 publishers (52% of them European).



Н.А. Клименко, Г.М. Здоровенко, И.А. Шевчук,
Л.Р. Решетняк, И.Ю. Рой, Л.К. Патюк

УДАЛЕНИЕ БИОПЛЕНКИ С АКТИВНЫХ УГЛЕЙ ПРИ ЭКСПЛУАТАЦИИ ПРОМЫШЛЕННЫХ АДСОРБЦИОННЫХ ФИЛЬТРОВ

Институт коллоидной химии и химии воды
им. А. В. Думанского НАН Украины, г. Киев

Изучены закономерности удаления биопленки и других адсорбированных веществ с активного угля фильтров, используемых для доочистки воды. Установлено, что максимальное удаление загрязняющих веществ достигается при двухэтапной обработке вначале раствором 1 М NaOH, а затем 0,85 %-ным раствором NaCl – до 0,18 г/100 см³ нерастворимых веществ и до 160 мг/см³ по общему органическому углероду. Для деиммобилизации живой биомассы наиболее эффективным было применение 0,85 %-ного раствора NaCl после раствора Рингера – вымывалось до 310 КОЕ/см³.

Ключевые слова: активный уголь, бактерии, биопленка, деиммобилизация.

Введение. Для многих отраслей промышленности, особенно пищевой, питьевая вода является исходным сырьем, к которому предъявляются специфические требования. Использование высококачественной воды особенно важно при производстве специальных напитков. Так, вода для пивоварения должна обладать качествами питьевой воды в соответствии с действующими нормативами (ДСанПиН 2.2.4-400-10) [1]. Кроме того, она должна соответствовать ряду специфических для пивоваренной промышленности технологических требований, соблюдение которых оказывает положительное влияние на процесс приготовления пива. Эти показатели являются более жесткими по сравнению с нормативами питьевой воды, и, в первую очередь, касаются водородного показателя воды (рН 6 – 6,5), щелочности (не более 0,5 – 1,5 мг-экв/дм³), жесткости (не более 2 – 4 мг-экв/дм³), содержания хлоридов, сульфатов, нитратов, железа, марганца и др. [2]. Что касается микробиологических показателей, то общее микробное число должно составлять не более 100 при 22°C (или 20 при 37°C), а коли-индекс – не более 3 или 0 при указанной температуре.

Известно, что качество водопроводной воды, прошедшей коммуникационные сети, часто не соответствует требованиям нормативных до-

© Н.А. КЛИМЕНКО, Г.М. ЗДОРОВЕНКО, И.А. ШЕВЧУК, Л.Р. РЕШЕТНЯК,
И.Ю. РОЙ, Л.К. ПАТЮК, 2013

кументов, в связи с чем необходима дополнительная очистка для использования ее в качестве сырья.

Угольные фильтры являются одним из наиболее эффективных инструментов по доочистке воды. Однако достижение необходимого качества воды лимитируется несколькими обстоятельствами. При фильтровании воды фильтрующая загрузка задерживает взвешенные частицы, сорбирует растворенные органические и неорганические вещества и микроорганизмы. Практически с первых дней работы фильтра частицы активного угля (АУ) подвергаются микробной колонизации, что может привести к образованию значительных биопленок. Такая биологическая активация гранулированного активного угля (ГАУ), с одной стороны, увеличивает его срок службы, способствует более эффективному удалению из воды вредных примесей вследствие биорегенерации [3]. С другой стороны, по мере увеличения массы биопленки происходит срыв отдельных ее фрагментов, а также физиологически регулируемое высвобождение в воду живых бактериальных клеток. Это, естественно, нежелательно для последующих технологических процессов как в пивоваренной, так и в других отраслях производства с использованием воды в качестве сырья. Таким образом, фильтры с ГАУ при неправильной эксплуатации могут служить источником постоянной микробной контаминации системы водоподготовки.

Биопленки, развивающиеся на ГАУ или любой другой биотической или абиотической поверхности, представляют собой структурированные сообщества бактериальных клеток, включенных в полимерный матрикс [4]. Полимерный матрикс – это сложная, чрезвычайно гидратированная среда, содержащая протеины, полисахариды и нуклеиновые кислоты [5]. Он выполняет структурную функцию, трофическую, барьерную, а также создает для клеток защищенную микросреду [4, 6, 7]. Благодаря всем этим свойствам биопленки обладают чрезвычайной устойчивостью, и поэтому необходима разработка методов управления свойствами биопленки, а именно повышение или угнетение ее развития и создание эффективных методов удаления из загрузки фильтра.

Цель данной работы – исследование эффективности деиммобилизации нативных биопленок из активного угля промышленных фильтров пивоваренного производства, используемых для доочистки водопроводной воды; прогнозирование рациональных условий работы фильтра, а также возобновление его адсорбционных свойств.

Методика эксперимента. Исследовали образцы двух марок ГАУ (Silcarbon, Filtrasorb), отобранных на различных глубинах фильтрующего слоя загрузки угольного фильтра. На фильтр поступала вода из городского водопровода, соответствующая нормативным требованиям к питьевой воде, прошедшая доочистку на песчаных фильтрах и содержащая

0,2 – 0,4 мг/дм³ активного остаточного хлора. Условия эксплуатации угольного фильтра: марка угля/высота фильтрующего слоя – верхний слой Silcarbon K-835/0,75 м, нижний слой Filtrasorb 400/0,65 м; площадь фильтра – 5 м²; скорость фильтрования – 8 м/ч. Режим температурной дезинфекции (санации): обратная промывка – 600 с; расход – 150 м³/ч; подогрев до 95°С – 2,5 ч при рециркуляции горячей воды со скоростью 5 м/ч; охлаждение – до 35°С; повторная обратная промывка – 600 с. Периодичность дезинфекции – один раз в 7 – 14 сут. Образцы для анализа отобраны через трое суток эксплуатации фильтра после проведения температурной санации.

Silcarbon K-835 получают из скорлупы кокосового ореха, а Filtrasorb 400 – из битуминозного угля путем термической активации водяным паром. Характеристики обоих углей приведены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристики активных углей, загруженных в промышленные фильтры пивоваренного производства

Параметр	Активный уголь	
	Silcarbon K-835	Filtrasorb 400
Йодное число, мг/г	–	–
Эффективный размер гранул, мм	0,51 – 2,5	0,55 – 0,75
Влажность, %	5	2
Эффективная удельная поверхность, м ² /г	950 – 1050	950 – 1100

Эксперименты по анализу смывов проводили в двух направлениях и каждый опыт в трех повторностях. В первой серии опытов смывали и затем анализировали накопившиеся в толще фильтра нерастворимые вещества. Для этого навески влажного АУ по 10 г из разных по высоте фильтра точек отбора (0; 0,5 и 1 м) заливали по 100 дм³ раствором 1 М NaOH, раствором Рингера (8,6 г NaCl, 0,33 г CaCl₂ и 0,3 г KCl в 1 дм³ воды) в разведении 1:4, 0,85 %-ным раствором NaCl и дистиллированной водой. Навеску АУ встряхивали с раствором в течение 40 мин, отстаивали 2 – 5 мин, надосадочную жидкость сливали и фильтровали через бумажный обеззоленный и предварительно взвешенный фильтр. Далее фильтр с полученным осадком высушивали и взвешивали. По разнице массы высушенного фильтра с осадком и предварительно высушенного фильтра определяли количество нерастворимых соединений, накопившихся в толще фильтра АУ. В полученном фильтрате определяли количество углеводов (реакцией с фенолом и серной кислотой [8,9]) и

общего органического углерода (ООУ) методом каталитического сжигания при 800°C на приборе Shimadzu TOC-V CSN. Навески АУ после отделения надосадочной жидкости повторно заливали по 100 дм³ растворами 0,85%-ного NaCl или 1 М NaOH и проводили процедуры, описанные выше.

В другой серии опытов при соблюдении стерильных условий навески АУ по 1 г (также отобранные на высоте 0; 0,5 и 1 м) заливали по 25 дм³ растворами Рингера, NaOH и NaCl, состав и концентрации которых описаны выше. Залитые образцы АУ выдерживали 30, затем встряхивали 40 и отстаивали 2 – 5 мин. Надосадочную жидкость сливали и определяли в ней количество живых бактерий, растущих на мясо-пептонном агаре (МПА). Образцы АУ повторно заливали 0,85 %-ным раствором NaCl (25 дм³) и обрабатывали так же, как и при первом смыве. В надосадочной жидкости определяли количество живых бактериальных клеток. В обоих случаях для этого в чашки Петри вносили по 1 см³ надосадочной жидкости и заливали МПА (глубинный метод). Количество живых микробных клеток оценивали путем прямого подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ) через 24 ч культивирования при 37°C [10].

Результаты и их обсуждение. В первой серии опытов была оценена эффективность растворов Рингера, NaOH и NaCl (состав и концентрация описаны выше), а также дистиллированной воды по вымыванию из АУ фильтров твердой фазы. Эта нерастворимая фаза может содержать взвесь, характерную для водопроводной воды после ее транспортировки и задержанную в слое угля, а именно продукты гидролиза коагулянта, частицы глиняной взвеси и продукты коррозии. Кроме этого, поскольку в толще АУ и коммуникационных сетях существуют благоприятные условия для бактериального роста ($T > 15^\circ\text{C}$ и концентрация органического субстрата $> 0,25 \text{ мгС/дм}^3$ [11]), в вымытой элюентами твердой фазе также могут присутствовать фрагменты биопленки и отдельные микробные клетки.

На рис. 1 показана эффективность вымывания нерастворимой фазы с загрузки фильтра на разной высоте и различными элюентами. Видно, что наиболее сильным элюентом является раствор 1М NaOH – количество вымытого нерастворимого осадка с проб АУ, отобранных на поверхности фильтра и с глубины 0,5 и 1,0 м, составляет соответственно 0,35; 0,39 и 0,52 г/100см³. Количество вымытого осадка растворами Рингера, NaCl и дистиллированной водой приблизительно одинаковое (0,04 – 0,06 г/100см³) и не зависит от высоты отбора пробы АУ. Из данных по обработке активного угля раствором 1М NaOH следует, что наибольшее количество вымытых частиц твердой фазы соответствует самому нижнему слою загрузки фильтра. Это свидетельствует о фронтальной отработке слоя фильтрующей загрузки в соответствии с теорией Минца и исчерпание задерживающей способности загрузки.

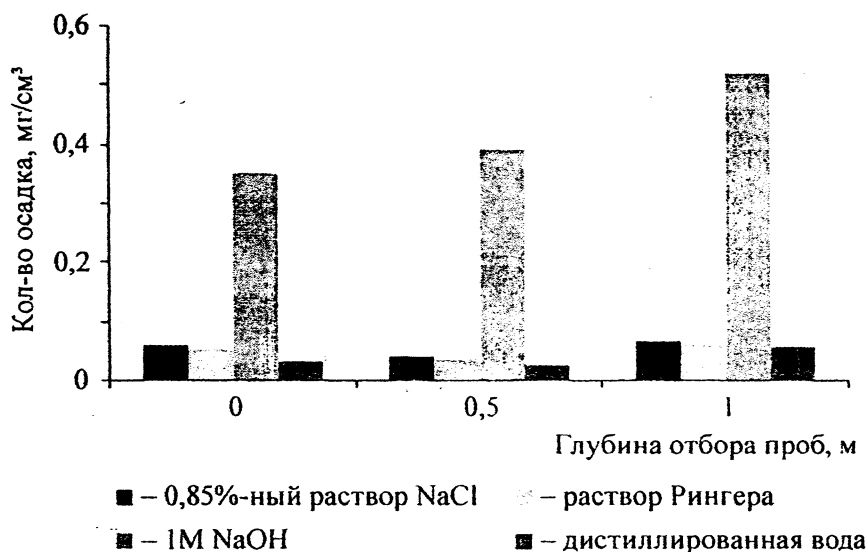


Рис. 1. Содержание нерастворимых веществ в смывах с проб активного угля различными элюентами.

Для контроля за удалением из фильтра продуктов биологического происхождения, помимо общего количества нерастворимых веществ, было оценено и наличие углеводов в смывах с АУ. Углеводы, как известно, являются основным компонентом матрикса биопленки, задействованным в ее формировании, структурной организации и функционировании. Они могут быть использованы микроорганизмами как источник питательных веществ в условиях дефицита последних [12, 13]. Таким образом, количественная оценка содержания углеводов в смывах позволит оценить эффективность применения различных элюентов для отмычки и восстановления адсорбционных свойств АУ в процессах эксплуатации не только от твердой фазы, но и от биопленки.

Анализ содержания растворимых углеводов в фильтратах смывов с АУ показал, что они присутствуют по всей высоте фильтра. Это косвенно свидетельствует о наличии микроорганизмов, существующих в виде биопленки, в исследуемой системе доочистки воды. Показано, что наиболее эффективным элюентом сахаридов, как и в случае с удалением нерастворимой фазы, является раствор 1M NaOH (рис. 2). Так, содержание углеводов в щелочных смывах составляет 108 – 120 мг/100см³, что в среднем в пять раз превышает их содержание в смывах другими элюентами. Следует отметить также относительно равномерное послойное распределение углеводов, свидетельствующее о микробной колонизации фильтра по всей высоте уже на третьи сутки после его санации.

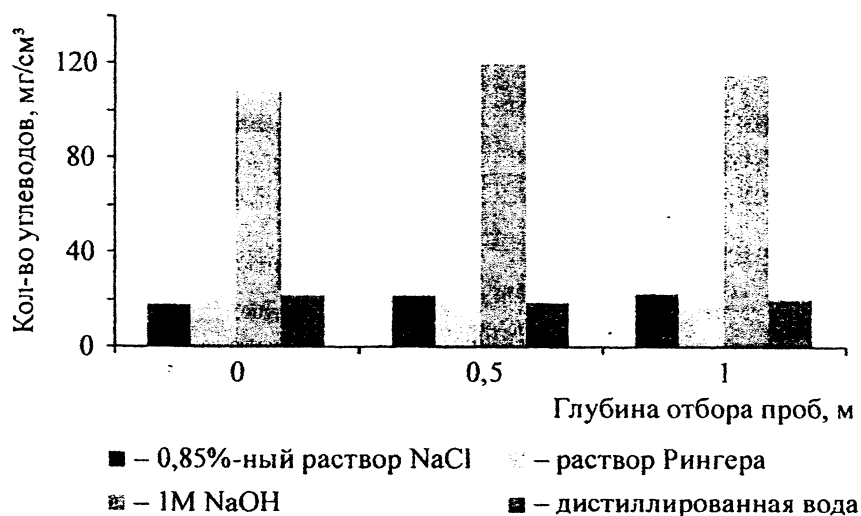


Рис. 2. Содержание углеводов в фильтрах смывов с проб активного угля различными элюентами.

Параллельно с оценкой степени удаления нерастворимых веществ и продуктов биологического происхождения (а именно углеводов) в смывах с проб угля исследуемыми растворами определяли и количество живых микробных клеток (рис. 3). Из представленных на указанном рисунке данных видно, что основное количество микроорганизмов выявлено в поверхностном слое загрузки фильтра. Это обусловлено тем, что лобовой слой адсорбента при его фронтальной отработке является насыщенным до равновесной величины как субстратом (растворимыми органическими веществами), так и адгезированными микроорганизмами, условия существования которых являются благоприятными при избытке адсорбированного субстрата.

Наиболее эффективно живые микробные клетки вымывались физиологическими растворами, в частности раствором Рингера, что свидетельствует о щадящей деиммобилизации биопленки. При этом живые микробные клетки воспроизводимо отсутствовали в смывах раствором 1M NaOH, который показал себя наиболее эффективным элюентом при смыве других загрязняющих веществ (см. рис. 1, 2). Причем живые клетки не выявлялись и в смывах с проб АУ раствором 0,5 M NaOH. Объяснением этому служит известный бактерицидный эффект щелочи: под действием гидроксильных ионов происходит разрушение микробной клетки вследствие гидролиза белков, расщепления углеводов и омыления жиров [14].

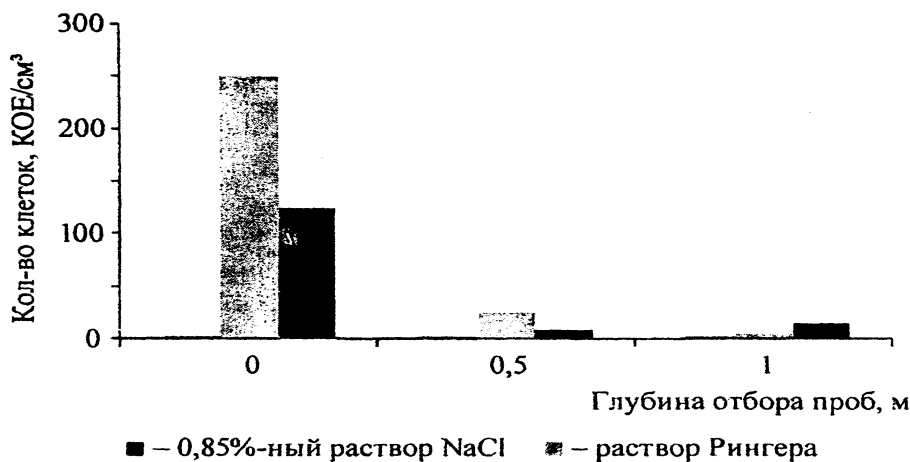


Рис. 3. Количество живых микробных клеток в смывах с проб активного угля различными элюентами.

При определении степени отмывки проб АУ исследуемыми элюентами была проведена серия опытов по повторной обработке проб угля растворами 0,85 %-ного NaCl и 1 М NaOH. Параллельно определению содержания нерастворимой фазы в смывах контролировали и уровень органического углерода, что также дает возможность судить об удалении элюентами органического загрязняющего вещества с АУ фильтра.

Анализ полученных данных о содержании твердой фазы в повторных смывах с проб АУ, отобранных в поверхностном слое, показал, что обработка, даже таким эффективным элюентом, как раствор 1М NaOH (см. рис. 1), не ведет к исчерпывающему освобождению частиц угля от соответствующего загрязняющего вещества за один этап промывки (рис. 4). Из представленных на указанном рисунке данных видно, что при повторной обработке проб АУ раствором NaCl вымывается еще 0,007 – 0,015 г/100 см³ нерастворимого осадка, тогда как при обработке раствором NaOH – до 0,15 г/100 см³.

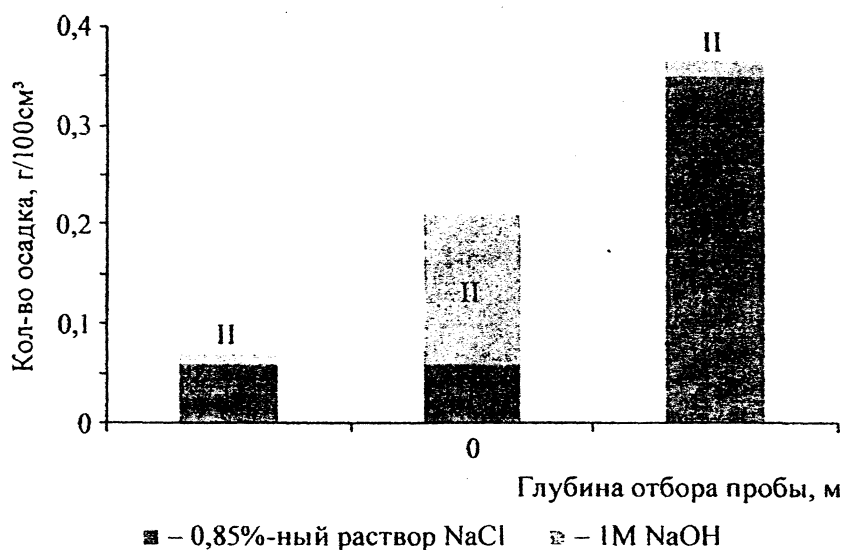


Рис. 4. Содержание нерастворимых веществ в первом (I) и повторном (II) смывах с проб активного угля, отобранного на глубине 0 м, различными элюентами.

Кроме того, в повторных смывах наблюдается и дополнительное вымывание растворимого органического загрязняющего вещества, о чем свидетельствует уровень ООУ в фильтрах (рис. 5). Более эффективным для повторной обработки является раствор 1 М NaOH – происходит вымывание еще 115 мгС/см³, что составляет около 30 % от всего органического загрязняющего вещества, вымытого при двухэтапной промывке.

Таким образом, при отмывке в один этап невозможно достичь полного удаления загрязняющих веществ с поверхности угля, даже при использовании такого эффективного элюента, как раствор 1М NaOH. Последовательность применения элюентов при двухэтапной обработке АУ фильтра также играет определенную роль. Показано, что наиболее эффективной является следующая комбинация элюентов: вначале NaOH, а затем NaCl. При этом удаляется 0,015 г/100см³ веществ нерастворимой фазы и 43 мг/см³ органических веществ (по ООУ), тогда как при двукратном применении 0,85%-ного раствора NaCl – соответственно только 0,007 г/100см³ и 6 мг/см³ (см. рис. 5).

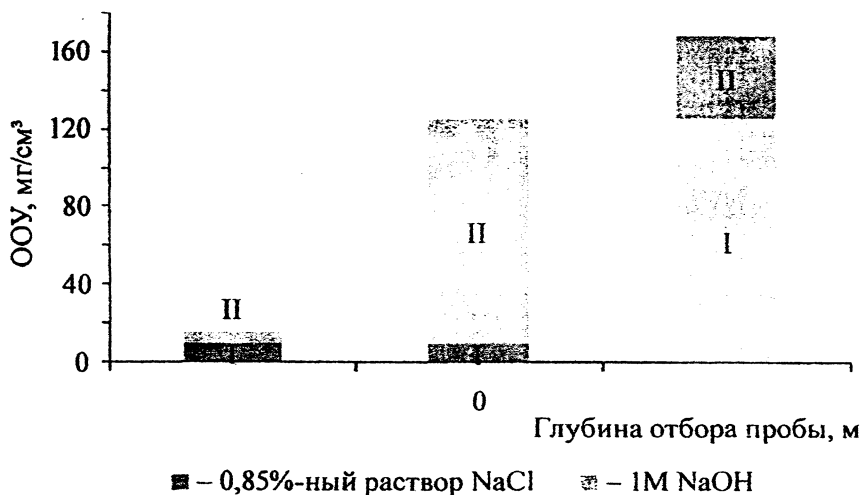


Рис. 5. Содержание общего органического углерода в первом (I) и повторном (II) смывах с проб активного угля, отобранного на глубине 0 м, различными элюентами.

Данные о повторной обработке проб АУ 0,85 %-ным раствором NaCl для отмывки от микробных клеток представлены в табл. 2.

Таблица 2. Количество живых микробных клеток в повторных смывах с активного угля 0,85 %-ным раствором NaCl

Глубина отбора проб активного угля, м	Кол-во живых микробных клеток в повторных смывах 0,85%-ным раствором NaCl после первичной обработки различными элюентами, КОЕ/см ³		
	1 М NaOH	раствор Рингера	0,85%-ный NaCl
0	11	57	75
0,5	13	47	19
1,0	20	49	53

Следует отметить, что живые микробные клетки были обнаружены в повторных смывах по всей высоте загрузки фильтра, а также после первичной обработки как физиологическими растворами (0,85 %-ный раствор NaCl и раствор Рингера), так и раствором 1 М NaOH. Из табл. 2 видно, что количество живых клеток в повторных смывах в большей сте-

пени зависит от вида первичного элюента и в меньшей степени – от глубины отбора проб. Независимо от глубины отбора пробы АУ, при использовании NaCl после NaOH в смывах обнаруживается наименьшее количество живых клеток, что, несомненно, связано, как уже упоминалось выше, с бактерицидным эффектом щелочи. Можно предположить, что при первичной обработке пробы АУ раствором 1 М NaOH большинство клеток разрушается и лишь часть из них, которая, возможно, была защищена полисахаридным матриксом, капсулой или стенками макропор угля, выживает и удаляется с АУ при последующей отмывке.

Анализ эффективности применения двухэтапной обработки проб АУ для удаления живых микробных клеток показал, что наибольшее количество жизнеспособных клеток содержится в смывах с проб угля, отобранного на поверхности загрузки, при комбинированном применении хлорида натрия после раствора Рингера – 310 КОЕ/см³, тогда как при двукратной обработке 0,85 %-ным раствором NaCl – около 200 КОЕ/см³ (рис. 6).

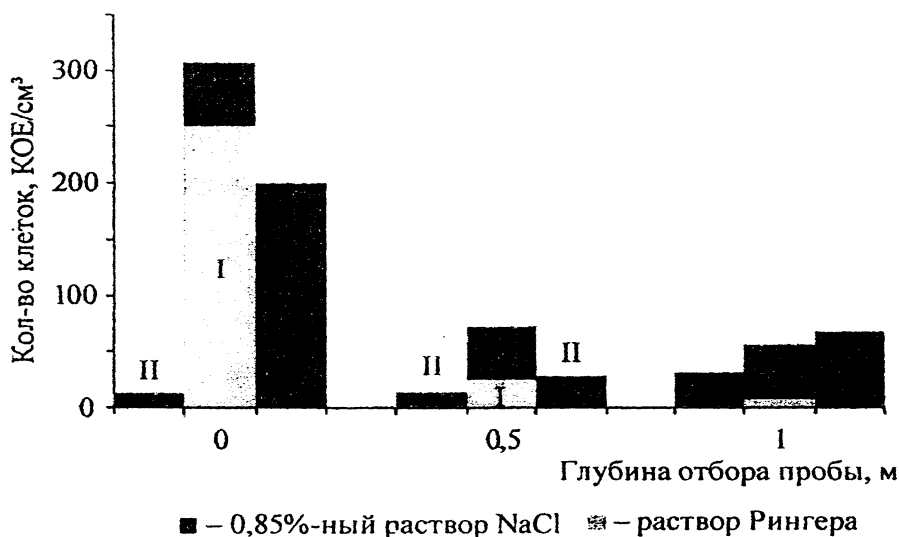


Рис. 6. Количество живых микробных клеток в первых (I) и повторных (II) смывах с проб активного угля различными элюентами.

Причем следует отметить, что при отмывке проб угля, отобранного на глубине 0,5 и 1 м, в отличие от поверхностного слоя, более эффективной была именно повторная обработка элюентом. Это явление предположительно может быть связано с послойным распределением микроорганизмов по высоте загрузки фильтра. В частности, в более глубоких слоях

грузки фильтра плотность клеток значительно меньше, вследствие чего больший процент клеток имеет возможность контактировать и быть закрепленным на поверхности АУ, что усложняет их извлечение. И только повторная обработка элюентом позволяет достаточно ослабить и разорвать связи между клетками и углем, что ведет к выявлению в повторных смывах большего количества жизнеспособных микробных клеток, чем при первичной обработке.

Выводы. Таким образом, в ходе экспериментов по удалению с частиц АУ различных видов загрязняющих веществ установлено, что наиболее эффективным элюентом твердой фазы и растворимых углеводов является раствор 1М NaOH, а живой биомассы – раствор Рингера. Показано, что двухэтапная промывка частиц АУ фильтра всегда повышает эффективность отмывания от загрязняющих веществ по сравнению с одноэтапной. Для максимального удаления твердой фазы и растворимых органических соединений наиболее целесообразно использовать 0,85 %-ный раствор NaCl после обработки раствором 1М NaOH, а для удаления живых микробных клеток – 0,85 %-ный раствор NaCl после раствора Рингера.

Авторы благодарны Ю.В. Топкину за помощь в определении содержания общего органического углерода.

Резюме. Досліджено закономірності видалення біоплівки та інших адсорбованих речовин з активованого вугілля фільтрів, що використовуються для доочищення води. Встановлено, що максимальне видалення забруднюючих речовин досягається за двоетапною обробки спочатку розчином 1 М NaOH, а потім 0,85 %-ним розчином NaCl – до 0,18 г/100см³ нерозчинних речовин і до 160 мг/см³ за загальним органічним вуглецем. Для деіммобілізації живої біомаси найбільш ефективним є застосування 0,85 %-ного розчину NaCl після розчину Рінгера – вимивалось до 310 КУО/см³.

*N.A. Klymenko, G.M. Zdrovenko, I.A. Shevchuk,
L.R. Reshetniak, I.Yu. Roi, L.K. Patiuk*

REMOVAL OF BIOFILM FROM ACTIVATED CARBON AT OPERATION OF INDUSTRIAL ADSORPTION FILTERS

Summary

Principles of biofilm and other pollutants removal from activated carbon filters used for water purification were studied. It is established the maximum

removal of pollutants is reached at a two-stage process beginning with 1M NaOH and then 0,85 % NaCl – up to 0,18 g/100 cm³ of insoluble substances and up to 160 mg/cm³ by a total organic carbon. Most effective for living biomass removal is using of 0,85 % NaCl after Ringer's solution – up to 310 KFU/sm³ is washed.

Список использованной литературы

- [1] *ДСанПіН 2.2.4-400-10*. Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною – Введ. 12.05.10.
- [2] *ТИ 10-5031536-73-90*. Технологическая инструкция по водоподготовке для производства пива и безалкогольных напитков. – Введ. 20.12.90.
- [3] *Aktas O., Cecen F.* Adsorption, desorption and bioregeneration in the active carbon // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* – 2007. – 59, N 4. – P. 257 – 272.
- [4] *Dunne W. M.* Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? // *Clinical Microbiol. Rev.* – 2002. – 15, N 2. – P.155 – 166.
- [5] *Brand S. S., Vik A., Friedman L. et al.* Biofilms: the matrix revisited // *Trends Microbiol.* – 2005. – 13, N1. – P. 20 – 26.
- [6] *Николаев Ю. А., Плакунов В. К.* Биопленка – "город микробов" или аналог многоклеточного организма // *Микробиология.* – 2007. – 76, № 2. – С. 149 – 163.
- [7] *Hall-Stoodley L., Costerton J. W., Stoodley P.* Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases // *Nature.* – 2004. – 2. – P. 95 – 108.
- [8] *Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. R. et al.* Colorimetric method for determination of sugar and related substances // *Anal. Chem.* – 1956. – 28. – P. 350 – 355.
- [9] *Варбанец Л. Д., Здоровенко Г. М., Книрель Ю. А.* Методы исследования микробных эндотоксинов. – К.: Наук. думка, 2006. – 236 с.
- [10] *Руководство к практическим занятиям по микробиологии* / Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. – 215 с.
- [11] *Niquette P., Service P., Savoie R.* Bacterial dynamics in the drinking water distribution system of Brussels // *Water Res.* – 2001. – 35, N 3. – P. 675 – 682.
- [12] *Sutherland I. W.* Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework // *Microbiology.* – 2001. – 147. – P. 3 – 9.
- [13] *Zhang X., Bishop P. L.* Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances // *Chemosphere.* – 2003. – 50. – P. 63 – 69.
- [14] *Вашиков В. И.* Средства и методы стерилизации, применяемые в медицине. – М.: Медицина, 1973. – 368 с.

Поступила в редакцию 18.08.2011 г.