ХИМИЯ

УДК 579.6: 543.4

Шпота Елена Львовна,
мл.науч.сотр.,
Гуцалюк Наталия Васильевна,
науч.сотр.,
Институт химии и фитотехнологий НАН КР

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЭМ – ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

Аннотация. Изучалась возможность извлечения тяжёлых металлов и цианидов из отходов переработки руды. Применялась стимуляция аборигенной микрофлоры отходов на первом этапе, а также внесение микроводорослей на втором этапе ремедиации сточной воды.

Ключевые слова: ЭМ-технологии, ремедиация, цианиды, микрофлора, микроводоросли.

ӨНӨР ЖАЙДАН ЧЫККАН АГЫН СУУЛАРДЫ РЕМЕДИАЦИЯЛОО ҮЧҮН ЭМ – ТЕХНОЛОГИЯЛАРЫН КОЛДОНУУНУН КЕЛЕЧЕГИ

Аннотация. Кенди иштетүүдө оор металлдардын жана цианиддердин калдыктарын бөлүп чыгып, кайра иштетүү мүмкүнчүлүгү изилденди. Биринчи баскычта аборегендик микрофлорасынын стимуляциясы колдонулду. Экинчи баскычта агын суулардын ремедиациясына микробалырлар киргизилди.

Негизги сөздөр: ЭМ – технологиялары, ремедиация, цианиддер, микрофлора, микробалырлар.

PROSPECTS FOR THE USE OF EM-TECHNOLOGIES TO INDUSTRIAL WASTEWATER REMEDIATION

Abstract. The possibility of extracting heavy metals and cyanide from ore processing waste was studied. The stimulation of the aboriginal waste microflora was used in the first stage, as well as the introduction of microalgae in the second stage of wastewater remediation.

Key words: EM – technologies, remediation, cyanides, microflora, microalgae.

Сточные воды и твёрдые отходы переработки руд горно-обогатительных комбинатов содержат высокие концентрации солей тяжёлых металлов, мышьяка, комплексных цианидов и других токсичных соединений. Для ремедиации стоков применяются механические, физические, химические и биологические методы, которые широко представлены в многочисленных литературных источниках. Биологические и, в частности микробиологические методы (ЭМ – технологии) применяются на последних стадиях очистки стоков и имеют разные направления ввиду разнообразия применяемой микрофлоры и химического состава объектов ремедиации.

В наших предыдущих исследованиях были выделены и изучены микроорганизмы, способные к деструкции и утилизации цианидов [1,2,3]. На основании полученных

результатов проводились биотехнологические разработки в лабораторных условиях [4]. Также исследовалась способность микроорганизмов образовывать экзополисахаридные субстанции и биосорбция тяжёлых металлов на этих экзополисахаридах (ЭПС) [5].

В настоящей работе представлены результаты продолженных исследований по применению эффективной микрофлоры (ЭМ) для ремедиации стоков ЗИФ:

– стимуляция аборигенной микрофлоры сухих длительно хранящихся «хвостов» ЗИФ «Кумтор» с целью деструкции комплексных цианидов и одновременного извлечения металлов в раствор;

– определение способности аборигенных микроорганизмов промышленных стоков ЗИФ «Макмал» сорбировать металлы;

– определение способности микроводоросли Chlorella sp. расти на сточной воде ЗИФ «Макмал» в целях дальнейшей ремедиации стоков.

Методы исследования

Деструкция комплексных цианидов и измерение концентрации металлов в растворе проводились в опыте с сухими «хвостами» ЗИФ «Кумтор».

В два цилиндра с устройствами для продувки воздуха вносилось:

по 50 г сухих «хвостов» и 200 мл среды (опыт) или дистиллированной воды (контроль), (рис. 1). Среда для опыта состояла из: KH_2PO_4 – 1,8 г/л, $MgSO_4$ x 7 H_2O – 0,3г/л. Один раз в неделю проводилась продувка воздухом каждого цилиндра: опытного – с минеральной средой и контрольного – с дистиллированной водой. Свободные цианиды из цилиндров вместе с воздухом поступали в уловитель с 5% раствором NaOH. Кислотность пульпы в начале опыта – pH 6,0. Определение цианидов проводилось по методике [6]. Данные по содержанию цианидов вносились каждую неделю в таблицу 1.

После завершения опыта по определению цианидов в оба цилиндра была добавлена щёлочь до pH 13. После осаждения гидроксидов металлов из жидкой фазы щёлочью и просветления растворов проводилось отделение твёрдой фазы фильтрацией пульпы через бумажный фильтр «белая лента». Твёрдая фаза обрабатывалась 20% соляной кислотой в течение суток, вновь отфильтровывалась и измерялся объём солянокислых экстрактов.

Анализ элементов опытного и контрольного образцов проводился методом ICP-AES (OPTIMA 5300 DV) в лаборатории «Алекс Стюарт», г. Кара-Балта. Концентрация элементов с расчётом объёмов контроля и опыта на 100 мл солянокислых экстрактов представлена в таблице 2.

Определение элементного состава сточной воды ЗИФ «Макмал», осаждение ЭПС (экзополисахаридов) и растворение ЭПС проводилось по ранее отработанной методике [5]. Результаты представлены в таблице 3.

Микроводоросль Chlorella sp., выделенная нами из почвы культивировалась на среде Тамия [7], затем культура была добавлена в отношении 1:1 к сточной воде ЗИФ «Макмал». Через два месяца адаптированная культура микроводоросли была разлита по 350 мл в 4 опытные качалочные колбы с добавлением по 200 мг Na_2CO_3 в качестве источника углекислого газа для фотосинтеза. В три колбы были внесены дополнительно соли: KNO3 –1,5 г (колба №1); KNO_3 – 1,5 г и $MgSO_4$ x $7H_2O$-0,8 г (колба №2); KNO_3 –1,5 г, $MgSO_4$ x $7H_2O$ – 0,8 г, KH_2PO_4 – 0,37 г (колба №3). В контрольную колбу дополнительные соли внесены не были (колба №0). Культивирование проводилось в лабораторных условиях при периодическом перемешивании культуры; освещение – от окна; температура в течение всего периода была непостоянная от 14 до 28 градусов (комнатная).

Результаты и обсуждение

Способность некоторых бактерий, грибов, актиномицет разрушать цианидные комплексы металлов отмечалась в нескольких работах [8].

Предыдущие наши исследования поводились с микрофлорой, выделенной непосредственно из стоков хвостохранилища ЗИФ «Макмал».

Было доказано, что длительно хранящиеся сухие обобщённые «хвосты» флотации и цианирования ЗИФ «Кумтор» также изобилуют микроорганизмами, среди которых доминирует по предварительному определению актинобактерия *Arthrobacter sp.*

Виды этого рода способны использовать разнообразные органические вещества в качестве источников углерода и азота, выносить длительную засуху и голодание. Некоторые виды этого рода обладают нитрилазной активностью, то есть способны разрушать нитрильные соединения, к которым относятся и цианиды [9]. Кроме того, у *Arthrobacter* отмечена золоторастворяющая способность [10]. Наши результаты согласуются с литературными данными.

Представленные в таблице 1 цифры говорят о том, что в опыте свободных цианидов остаётся меньше, чем в контроле. В интервалах между измерениями (7 суток) происходит деструкция комплексных цианидов и ассимиляция свободного цианида микрофлорой.

Рис.1. Отгонка барботацией воздухом свободного цианида в уловитель с щёлочью

В результате стимуляции аборигенной микрофлоры добавлением минеральных солей происходит её более интенсивное размножение. Поэтому концентрация цианидов в опытном растворе снижается быстрее. Деструкция цианидных комплексов проходила в условиях pH 6. Часть цианида ассимилировалось бактериями [4]. Остальная часть в форме аниона CN- выделялась в среду и с помощью продувки воздухом в виде HCN поступала в приёмник с гидроксидом натрия.

Анализ элементов, вышедших в раствор после разрушения комплексов и растворения солей показал (таблица 2), что 20 элементов в опытном образце имеют концентрацию выше, чем в контроле.

Сокращения, применяемые в таблице 2: Э – элемент; (О) – опыт с добавлением солей; (К) – контроль.

Таблица 1. **Концентрация CN- иона в щелочном уловителе в контроле и опыте (в %)**

Измерения	Контроль	Опыт
№1	0,255	0,196
№2	0,313	0,196
№3	0,500	0,461
№4	0,200	0,190
№5	0,236	0,220
Сумма	1,504	1,263

Таблица 2. **Концентрации элементов в солянокислом экстракте**

Э	Au (O)	Au (К)	Ag (O)	Ag (К)	Al (O)	Al (К)	As (O)	As (К)	Ba (O)	Ba (К)
мг/л	1,117	1,028	0,687	0,382	288	209	1,069	2,36	16,0	9,28
Э	Be (O)	Be (К)	Bi (O)	Bi (К)	Ca (O)	Ca (К)	Cd (O)	Cd (К)	Co (O)	Co (К)
мг/л	0,133	0,127	0,53	0,47	10887	10210	0,152	0,145	0,706	0,819
Э	Cr (0)	Cr (К)	Cu (O)	Cu (К)	Fe (())	Fe (К)	Mn (O)	Mn (К)	Ni (O)	Ni (К)
мг/л	1,069	0,964	19,27	20,85	6329	5878	523	478	2,5	2,56
Э	Pb (O)	Pb (К)	Sb (O)	Sb (К)	Sc (O)	Sc (К)	Se (O)	Se (К)	Sn (O)	Sn (К)
мг/л	2,40	2,29	9,05	5,62	1,12	1,03	0,07	0,18	0,133	0,127
Э	Sr (O)	Sr (К)	Te (O)	Te (К)	V (O)	V (К)	W (O)	W (К)	Y (O)	Y (К)
мг/л	453	425	0,764	0,728	1,64	1,45	3,263	3,257	2,27	2,13
Э	Zn (O)	Zn (К)	Zr (O)	Zr (К)	P (O)	P (К)	Mg (O)	Mg (К)	K (O)	K (К)
мг/л	22,3	28,2	0,49	0,56	639	120,3	3590	3236	387,7	89,2

При пересчёте на процентное отношение концентраций элементов в опыте по сравнению с контролем получился следующий ряд:

Ag (80,8%); Ba (72,4%); Sb (60,46%); Al (37,8%); V (13,1%); Bi (12,76%); Cr (10,89%); Mn (9,4%); Sc (8,73%); Au (8,6%); Fe (7, 67%); Ca (6, 63%); Sr (6, 58%); Y (6, 57%); Te (4, 94%); Pb (4, 8%) Cd (4, 8); Sn (4, 72%; Be (4, 7%); W (0, 18%).

Таким образом, наибольшее увеличение выхода в раствор в опыте по сравнению с контролем было у серебра. Золото показало незначительное увеличение концентрации в опыте. Остальные 7 элементов имели концентрации на несколько процентов больше в контрольном образце, чем в опытном, причём в контроле сильно повышены концентрации селена и мышьяка: Se (61, 12%); As (54, 7%); Zn (20, 92%); Co (13, 7%); Zr (12, 5%); Cu (7, 58%); Ni (2, 35%).

Подробное изучение этих процессов, особенно способность микрофлоры переводить золото в раствор [5,10] поможет разъяснить полученные данные.

Сточная вода ЗИФ «Макмал» населена бактериями, которые также образуют экзополисахаридные вещества. Опыт по осаждению ЭПС из сточной воды показал следующие результаты (таблица 3).

Сокращения в таблице 3: Э – элемент; С св – концентрация элемента в сточной воде; С эпс – концентрация элемента в ЭПС; % в ЭПС – процент концентрации элементов в ЭПС по отношению к концентрации в сточной воде.

Таблица 3. **Концентрации элементов в сточной воде (pH 6,75) и в ЭПС**

Э	С св, мг/л	С эпс, мг/л	% в ЭПС.	Э	С св, мг/л	С эпс, мг/л	% в ЭПС.
Cr	<0,01	0,1482	1482	Bi	0,07	0,043	61,46
Zn	0,06	0,0908	151,3	Fe	<2	1,0277	51,38
Ni	0,02	0,0239	119,5	Cu	0,03	0,01434	47,8
P	<0, 2	0,196	97, 99	As	0,19	0,02868	15,09
Ag	<0, 02	0,0143	71, 70	Sb	0,37	0,0239	6,46
Ca	58	392,9	66, 82	Na	207,3	2,4139	1,16
Sr	9,34	5,874	62, 89	Si	24,55	0,29158	1,19

Концентрации хрома, цинка и никеля в ЭПС на много выше, чем в воде. Остальные металлы и неметаллы показывают меньшие концентрации на ЭПС, чем в воде. Некоторые элементы определялись в сточной воде, но не в ЭПС. Например, концентрация в воде Mg равна 18,02 мг/л; K – 25,76 мг/л; Co – 0,03 мг/л; Mo – 0,79мг/л. Остальные элементы в стоках не определились из-за порога чувствительности прибора.

Традиционные процессы обработки стоков от тяжёлых металлов – осаждение в виде гидроксидов, сульфидов, окисление, восстановление, ионно-обменные реакции – дороги и небезопасны для окружающей среды. Биологические методы не приносят вреда биосфере и считаются более экономически выгодными. Осаждению металлов на ЭПС биоплёнок посвящено много работ [5] и процессы биоремедиации сточных вод разработаны для различных схем очистки.

Биосорбция ионов тяжёлых металлов с помощью микроводорослей изучается также довольно широко [11]. Поэтому нами исследовалась способность культуры *Chlorella sp.,* выделенной из почвы расти в сточной воде ЗИФ «Макмал». Рост хлореллы с добавлением Na_2CO_3 как источника углекислого газа был более активным, чем без добавления соды. Скорость осаждения культуры через 20 минут в разных колбах происходил в следующем порядке: 3>1>2>0. То есть, без дополнительного внесения макросолей (только сода) культура №0 показала самую низкую скорость осаждения и наилучший рост микроводоросли, оцениваемый визуально по интенсивности зелёного цвета и густоте культуры. Также

хороший рост был у варианта № 3, но в этой культуре присутствовало гораздо больше, чем в других вариантах клеток артробактера, образующих глобулы с клетками хлореллы. Хуже всего был рост в варианте №1, вариант №2 показал среднюю интенсивность роста. После перемещения опытных колб в условия меньшей интенсивности света через полгода наихудший рост был у культуры №0, наилучший – №1, культура №2 показала средний рост, №3 – средний рост, но в ней присутствовало много аборигенной микрофлоры.

Культура микроводоросли размножалась в колбах по-разному, но через 8 месяцев культивирования во всех опытах преобладала микроводоросль. Однако в среде колбы №3 наблюдалось больше осадка с аборигенной микрофлорой, чем в других колбах.

Самое медленное осаждение хлореллы было в контрольной колбе без дополнительного внесения минеральных солей. Самой быстрое осаждение – в колбе №3. Быстрое осаждение культуры способствует упрощению сбора биомассы, однако следует применять регулярное перемешивание культуры для её развития.

На фото (рис.2) показано осаждение 1.5 – месячной культуры Chlorella sp., с различным добавлением минеральных солей (см. методы исследования).

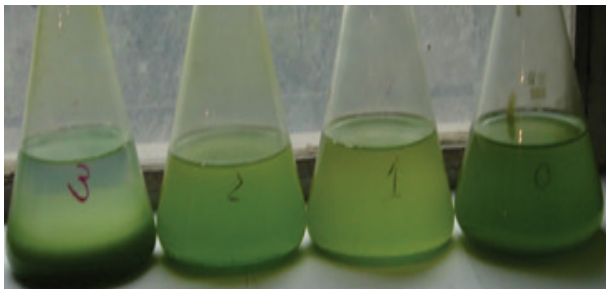

Рис. 2. Осаждение 1,5 – месячной культуры микроводоросли:
варианты слева направо: №3, №2, №1, №0.

Из литературы известна устойчивость почвенных водорослей к неблагоприятным факторам среды. Так, высушенные клетки хлореллы при 38 градусах оставались жизнеспособными при остаточной влажности 20–30%.

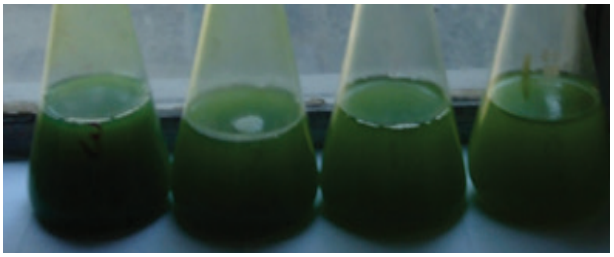

Рис. 3. Культура микроводоросли на сточной воде с добавлением солей. Возраст культуры – 8 месяцев

Почвенные водоросли выдерживают низкие и высокие температуры в условиях пустыни, а зелёные микроводоросли преобладают в альгофлоре почв Арктики [12]. Наша культура восстанавливала рост через 5 месяцев после нагрева до 70 градусов.

Использование микроводорослей в доочистке стоков также практикуется из-за способности этих микроорганизмов сорбировать катионы металлов из растворов с малой их концентрацией [11].

Заключение

Различные группы микроорганизмов обитают на поверхностях минералов и остаются в сточных водах, твёрдых отходах переработки руд. При создании подходящих условий для размножения, в первую очередь – кислотности, аэрации, наличия питательных веществ и влаги, происходит их развитие и накопление биомассы. Кроме того, для каждого микроорганизма требуются свои условия, при которых улучшается деструкция токсичных соединений, процессы биосорбции. Изучение процессов, происходящих в природе и применение знаний биологов и химиков в области ЭМ-технологий откроет перспективы для развития гидрометаллургической промышленности, ремедиации почв, воды и атмосферы.

Литература

1. *Гуцалюк Н.В., Иманакунов Б.И., Ульберг З.Р., Токтоматов Т.А., Савина Т.А., Джамгырчиева Т. Т., Дюшеева Б.М., Султанбеков С.А., Купсуралиева И.К.* Сукцессия микробной популяции под воздействием

цианидов в условиях периодического культивирования закрытой микроэкосистемы // Известия ВУЗов (г. Бишкек), 2004, №8. – 98–103 с.

2. *Гуцалюк Н.В., Савина Т.А.* Изучение антагонизма у цианидрезистентных бактерий //Известия НАН КР, 2006, №4. – 54–56 с.

3. *Гуцалюк Н.В., Иманакунов Б.И., Дюшеева Б.М., Савина Т.А., Султанбеков С.А.* Изучение динамики роста микробной популяции на среде с цианидами// Известия НАН КР, 2006, №3. – 42–44 с.

4. *Шпота Е.Л., Гуцалюк Н.В.* Разложение комплексных цианидов железа микроорганизмами// Известия НАН КР, 2019, №5 (в печати).

5. *Иманакунов Б.И., Шпота Е.Л.* Извлечение золота и других элементов из отходов переработки руды биотехнологическими методами// Доклады НАН КР, 2018, №1. – 43–52 с.

6. *Дж. Г. Бьюкенен* Цианистые соединения и их анализ. – Л., 1933. – С. 23.

7. *Владимирова М.Г., Семененко В.Е.* Интенсивная культура одноклеточных водорослей. // М. АН СССР, 1962. – 58 с.

8. *S. Gschwendtner* et al. Long-term ferrocyanide application via deicing salts promotes the establishment of Actinomycetales assimilating ferrocyanide-derived carbon in soil/ Microb. Biotechnol. 2016, Jul; 9(4): p. 502–513.

9. *A.K. Bandyopadhyay et.al.* Purification and Characterization of Benzonitrilases from Arthrobacter sp. Strain J-1 /Applied and Environmental Microbiology/ Feb. 1986, p. 302–306 Vol. 51, No. 2.

10. *Куканова С.И.* Гетеротрофные микроорганизмы и их роль в процессах извлечения золота из нестандартного сырья. Авт. дис. к.б.н. Ташкент,1992.

11. *N.Kumar Singh, D.Wattal Dhar.* Microalgal. Remediation of Sewage Effluent// Proc Indian Natn Sci Acad 76 No. 4 pp. 209–221 (2010).

12. *Штина Э.А., Голлербах М.М.* Экология почвенных водорослей. – М.: Наука, 1976. – 143 с.