

На правах рукописи

Забокрицкий Александр Александрович

РАЗРАБОТКА ТЕХНИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ
ПЕРЕРАБОТКИ ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ, СОДЕРЖАЩИХ
НИТРОЦЕЛЛЮЛОЗУ

05.21.03 – Технология и оборудование химической переработки биомассы дерева;
химия древесины

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Екатеринбург 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Уральский государственный лесотехнический университет» (ФГБОУ ВО «УГЛТУ»)

Научный руководитель: **Вураско Алеся Валерьевна**
доктор технических наук, доцент,
Федеральное государственное бюджетное образова-
тельное учреждение высшего образования «Ураль-
ский государственный лесотехнический университет»

Официальные оппо-
ненты: **Ковернинский Иван Николаевич**
доктор технических наук, профессор,
научный консультант по целлюлозно-бумажному
производству ООО «Экотол Сервис»
Шулаев Максим Вячеславович
доктор технических наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное образова-
тельное учреждение высшего образования «Казан-
ский национальный исследовательский технологиче-
ский университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образова-
тельное учреждение высшего образования «Север-
ный (Арктический) федеральный университет имени
М.В. Ломоносова» (ФГАОУ ВО САФУ)

Защита состоится «25» сентября 2019 г. в 10.00 на заседании диссертационного совета Д.212.281.02 при ФГБОУ ВО «Уральский государственный лесотехнический университет» по адресу: 620100, г. Екатеринбург, ул. Сибирский тракт, д. 37, ауд. 401.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Уральский государственный лесотехнический университет» www.usfeu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор технических наук, доцент

Шишкина Елена Евгеньевна

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Одной из проблем нашего времени является разработка и внедрение эффективных технологий по снижению экологической опасности действующих и закрытых промышленных предприятий, использующих в своем производственном цикле нитроцеллюлозу (НЦ).

Промышленные отходы НЦ и продуктов ее переработки по существующей классификации относятся к виду опасных отходов (код Н1), то есть взрывчатым веществам, «способным к химическим реакциям с выделением газов такой температуры и давления и с такой скоростью, что вызывает повреждение окружающих предметов».

Воздействие нитроцеллюлозы на экосистемы небезопасно и проявляется в смещении биологического равновесия в сторону доминирования микроорганизмов-деградантов. В результате деструкции НЦ и сопутствующих загрязняющих веществ образуются нехарактерные для экосистем продукты, вторично угнетающие аборигенную микрофлору. Также отмечается мутагенная активность отходов НЦ.

Кроме того, нитроцеллюлозосодержащие отходы представляют потенциальную опасность, так как в условиях отсутствия влаги и при механическом или тепловом воздействии может произойти их воспламенение.

Задача обезвреживания и рекультивации прудков-накопителей ФГУП «Режевской химический завод», закрытого в 2003 году, долгое время не имела приемлемого решения. Основной продукцией предприятия были пороха и взрывчатые вещества на основе нитратов целлюлозы. За время работы завода в прудках было накоплено значительное количество опасных веществ, в том числе нитроцеллюлозы и продуктов ее разложения. К таким производствам также относятся Бийский химический завод (закрыт в 2006 году, накоплено 459 тонн нитратов целлюлозы), Алексинский химический комбинат (200 тыс. тонн нитроцеллюлозосодержащих отходов), Красноярский химический комбинат «Енисей» (закрыт в 2011 году, 50 тонн нитратов целлюлозы) и другие.

В связи с этим актуальной экологической задачей является обоснование и разработка технических решений по микробиологической переработке нитроцеллюлозосодержащих отходов, обеспечивающих безопасность, высокую эффективность деструкции, экологичность и экономическую целесообразность.

Степень разработанности темы исследования. Проблему микробиологической деструкции нитроцеллюлозы исследовали следующие российские (Агзамов Р.З., Кобелева Й.В., Ильинская О.Н., Петрова О.Е. и Романова С.М.) и зарубежные авторы (Brodman V.W., Dalstaard T., Freedman D.L. и Wendt T.M.). Отдельные вопросы биодеструкции полимеров исследуют современные ученые (Глухих В.В., Бурындин В.Г., Сафин Р.Р.). Анализ отечественной и зарубежной научно-технической информации показывает, что большинство исследований посвящено изучению механизмов и продуктов деструкции НЦ в результате биохимических реакций

микроорганизмов, обладающих гидролитическими, целлюлозолитическими и денитрифицирующими свойствами. Разложение НЦ происходит с образованием водорастворимых соединений (моногликозидов, дигликозидов, нитратов, нитритов, аммонийных соединений), органических кислот (щавелевой, муравьиной, уксусной, масляной и др.), альдегидов, спиртов, простых эфиров, амидов, окислов азота (NO , NO_2), CO_2 и воды.

При этом анализ отечественной и зарубежной научно-технической информации показывает, что до настоящего времени эффективной и безопасной промышленной технологии на основе биодеструкции отходов, содержащих нитроцеллюлозу не разработано. Отсутствуют данные о создании биологических препаратов для нейтрализации нитроцеллюлозосодержащих отходов, их практического применения в лабораторных или в натуральных условиях. Единичные патенты, имеющиеся в данной области, не поддерживаются.

Цель работы и задачи работы. Цель настоящей работы состоит в обосновании и разработке технических решений по микробиологической переработке промышленных отходов, содержащих нитроцеллюлозу, для ремедиации загрязненных территорий. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести теоретические исследования по обоснованию и выбору современных методов ремедиации загрязненных территорий.

2. Выполнить комплекс экспериментальных исследований по поиску и изучению микроорганизмов, способных к биохимической деструкции и последующей утилизации нитроцеллюлозы.

3. Обосновать целесообразность разработки нового биологического препарата экологического назначения, а также изучить наличие биодеструктивных свойств (в отношении нитроцеллюлозы) существующих экобиопрепаратов и оценить перспективы их практического использования.

4. В лабораторных условиях провести количественную оценку комплекса физико-химических и биотехнологических параметров процесса биодеструкции нитроцеллюлозы, изучить эффективность предлагаемого биологического метода ее нейтрализации и обезвреживания и предложить полученные результаты в качестве технических решений для разработки на их основе технической документации по обезвреживанию загрязненных нитроцеллюлозой прудков-накопителей.

5. Провести комплекс мероприятий по научно-техническому сопровождению работ по обезвреживанию промышленных отходов Режевского химического завода.

6. Обосновать предложения по дальнейшему использованию биологического метода для решения экологических задач на промышленных предприятиях, использующих в своем производственном цикле нитроцеллюлозу.

Научная новизна работы. Критерий научной новизны заключается в комплексе конкретных результатов теоретических и экспериментальных исследований по обезвреживанию прудков-накопителей Режевского химического завода,

загрязненных нитроцеллюлозой, в результате снижена ее концентрация в донных осадках до безопасного уровня. Новизна применения экобиопрепарата «Центрум-MMS» для биодеструкции НЦ подтверждена патентами РФ на изобретение.

Теоретическая значимость работы. Обоснованные технические решения позволили в последующем впервые разработать и апробировать метод микробиологической переработки промышленных отходов, содержащих нитроцеллюлозу.

Установлено, что виды почвенных бактерий с аэробным типом дыхания родов *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus* и *Pseudomonas* обладают нитроцеллюлозолитической активностью и способны к биодеструкции НЦ.

Установлена закономерность проявления ассоциациями микроорганизмов-биодеструкторов нитроцеллюлозы более высокой (в 1,4...4,2 раза) биодеструктивной активности по сравнению с использованием штаммов микроорганизмов одного вида. Показана возможность создания биологических препаратов экологического назначения путем сочетания наиболее активных штаммов микроорганизмов.

Установлена закономерность наиболее эффективной биодеструкции НЦ при следующих значениях биотехнологических параметров: концентрация водородных ионов 6,2...7,8 ед. рН; температура окружающей среды 25...30 °С; удельная концентрация биологического препарата (при концентрации $10^7...10^8$ кл·см⁻³) – 5 %; продолжительность воздействия препарата 28 сут.; кратность применения препарата 2...3 раза; уровень аэрируемости 15...20 мг·дм⁻³; количество вносимых биостимуляторов: суперфосфат гранулированный 5,0 г·дм⁻³; калий хлористый 1,15 г·дм⁻³.

Практическая значимость работы. Реализованы технологические и технические решения для обезвреживания загрязненных нитроцеллюлозой прудков-накопителей Режевского химического завода. Концентрация нитроцеллюлозы в донных осадках прудков-накопителей Режевского химического завода в результате выполненного комплекса работ снизилась до безопасного уровня (10^{-6} г·кг⁻¹).

Обоснованы количественные значения физико-химических и биотехнологических параметров, обеспечивающих наиболее эффективные условия реализации биодеструктивных свойств экобиопрепарата «Центрум-MMS», позволяющих достигнуть практически полной биодеструкции нитроцеллюлозы.

Предложенные технические решения стали основой для разработки технической документации по обезвреживанию прудков-накопителей Режевского химического завода, загрязненных нитроцеллюлозой.

Методология и методы исследований. Методология работы представляла собой комплекс информационно-аналитических и экспериментальных методов, выполненных как в лабораторных, так и в натуральных условиях.

Применены общепринятые методы физико-химических и микробиологических исследований. Количественные значения содержания нитроцеллюлозы в образцах определяли с использованием хромато-масс-спектрометрии.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Перечень аэробных почвенных микроорганизмов, способных к биодеструкции нитроцеллюлозы, и перспективных для создания на их основе новых эффективных биологических препаратов экологического назначения.

2. Количественные значения биотехнологических параметров для обоснования промышленной технологии очистки объектов, загрязненных нитроцеллюлозой.

3. Результаты ремедиации биологическим методом прудков-накопителей Режевского химического завода.

Достоверность результатов работы. Достоверность научных положений и выводов базируется на значительных по объему полученных экспериментальных данных, современных методах исследований и результатах статистической обработки.

Объективность решения поставленных задач и достижения цели настоящих исследований подтверждается результатами, которые были получены в рамках Федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2014 годы)», участия в исполнении государственного контракта от 26 декабря 2011 г. № 11412.1007500.13.005 с Минпромторгом России и в последующем подтверждены заключениями экспертов (начальником экологической службы ООО «ЭкоРК», г. Москва, лицензия Ростехнадзора от 1 декабря 2014 г. № ВМ-00-015134, на осуществление деятельности, связанной с обращением взрывчатых материалов промышленного назначения; АО «Научный центр ВостНИИ по промышленной и экологической безопасности в горной отрасли», г. Кемерово, Аттестат аккредитации № RA.RU.11ЦЦ04 органа по сертификации взрывчатых веществ, материалов и изделий на их основе; ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий Роспотребнадзора», г. Екатеринбург, Аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.510545) и уполномоченным органом исполнительной власти (Заключение государственной экологической экспертизы Департамента Федеральной службы по надзору в сфере природопользования по Уральскому федеральному округу от 28 февраля 2014 г. № 194).

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались на XVI международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы в науке и практике» (Самара, 2019) и VII Всероссийской отраслевой научно-практической конференции «Перспективы развития техники и технологий в целлюлозно-бумажной и лесоперерабатывающей промышленности» (Пермь, 2019).

Личный вклад автора. Автором обоснованы постановка и решение теоретических и практических задач по поиску и изучению микроорганизмов, способных к биохимической деструкции нитроцеллюлозы, изучению биодеструктивных свойств в отношении нитроцеллюлозы существующих экобиопрепаратов, оценке комплекса физико-химических и биотехнологических параметров процесса

биодеструкции нитроцеллюлозы. Выполнены экспериментальные исследования, обработаны результаты и объяснены полученные данные, сформулированы положения научной новизны, практической значимости и общие выводы. Автор организовывал и выполнял научно-техническое сопровождение работ по обезвреживанию промышленных отходов Режевского химического завода в соответствии с разработанной, по результатам экспериментальных исследований, технической документации по обезвреживанию загрязненных нитроцеллюлозой прудков-накопителей. Также обоснованы предложения по дальнейшему использованию биологического метода для решения экологических задач на промышленных предприятиях, использующих в своем производственном цикле нитроцеллюлозу. Автору принадлежат основные идеи опубликованных лично и в соавторстве и использованных в диссертации работ.

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано восемь работ, в том числе три статьи в издании, рекомендованном Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, получено три патента РФ на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа изложена на 162 страницах машинописного текста, иллюстрирована 13 таблицами и 12 рисунками. Список литературы состоит из 263 отечественных и 39 зарубежных источников.

Содержание работы

Введение. Обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертации, основные положения, выносимые на защиту.

В **первой главе** приведен аналитический обзор по теме исследования.

Осуществлен анализ различных современных методов утилизации нитроцеллюлозы, в составе промышленных отходов. Дан критический анализ их достоинств и недостатков. Обоснованы предложения и показаны перспективы использования биологического метода нейтрализации и разложения нитроцеллюлозы.

Во **второй главе** представлены результаты собственных исследований. Глава состоит из четырех разделов.

В **первом разделе** представлены материалы и методы исследований. В исследованиях использовали бактериальные культуры, выращенные на плотных и в жидких питательных средах. Культуры были получены из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ФГУП «ГосНИИ Генетика») и Всероссийской коллекции микроорганизмов (ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина) или выделены непосредственно нами из почвы в районе береговой зоны и проб донных осадков прудков-накопителей Режевского химического завода. Из большой группы сапрофитных микроорганизмов различных родов и видов для последующих исследований были взяты те, которые по данным

различных источников литературы обладают определенным уровнем деструктивных свойств к различным ксенобиотикам органической природы и могут также быть активными в отношении биологического разложения нитроцеллюлозы и перспективными для практического применения.

При решении поставленных задач использовали аэробные микроорганизмы четырех родов: *Arthrobacter sp.* (1 штамм), *Acinetobacter sp.* (1 штамм), *Rhodococcus sp.* (2 штамма), *Pseudomonas sp.* (4 штамма).

Культуры выращивали с использованием синтетической питательной среды в шейкер-инкубаторе KS 4000i. Аналитические исследования проводили на хромато-масс-спектрометре Trace GC Ultra/DSQII и хроматографе Цвет 800.

Во втором разделе представлены результаты лабораторных исследований биодеструктивных свойств бактериальных культур микроорганизмов. В качестве модели использовали 60 % раствор пироксилинового бездымного пороха марки «Сокол» в ацетоне. В подготовленную питательную среду объемом $(50,0 \pm 0,5)$ см³ вносили исследуемый образец в пересчете на НЦ в количестве 1, 3, 5 или 10 масс %. После этого в колбы вносили по $(1,0 \pm 0,1)$ см³ суспензии клеток каждого изучаемого штамма (или их ассоциаций) в концентрации не менее $1 \cdot 10^7$ кл.·см⁻³. Параллельно готовили образцы без внесения в них культур штаммов и бактериальных изолятов. Колбы с образцами закрывали ватно-марлевыми пробками и устанавливали в шейкер-инкубатор KS 4000i при 120 об·мин⁻¹. Экспериментальные модели инкубировали при комнатной температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Количественное содержание НЦ в контролируемые сроки определяли методом хромато-масс-спектрометрии.

Результаты выполненных экспериментальных исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Интенсивность роста бактериальных культур на средах с НЦ

Культуры	Интенсивность роста микроорганизмов при концентрации НЦ в среде (%), баллы			
	1%	3%	5%	10%
<i>Arthrobacter sp.</i>	++	++	+	-
<i>Acinetobacter sp.</i>	++	++	++	-
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	+++	+++	+++	+
<i>Rhodococcus sp. 2</i>	++	++	++	-
<i>Pseudomonas fluorescens 1</i>	++	++	+	-
<i>Pseudomonas fluorescens 2</i>	++	++	+	-
<i>Pseudomonas fluorescens 3</i>	++	++	+	-
<i>Pseudomonas fluorescens 4</i>	+++	+++	+++	+

Примечание – здесь и далее интенсивность роста определяли полуколичественным методом (Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Бином, 2012. 394 с.).

Таким образом, в сравнительных экспериментальных исследованиях установлено, что у всех представителей выбранных родов микроорганизмов наблюдается способность расти в присутствии в питательной среде НЦ.

Высокую интенсивность размножения показали бактериальные изоляты *Rhodococcus sp. 1* и *Pseudomonas fluorescens 4*, обильный рост которых наблюдался даже при концентрации НЦ – 5 %. Одновременно их рост полностью не подавлялся и наличием 10 % НЦ в питательной среде.

С целью предварительной оценки возможности и целесообразности использования некоторых из производимых в настоящее время экобиопрепаратов в сравнительных исследованиях оценивали способность микроорганизмов-биодеструкторов, входящих в их состав, расти на средах, загрязненных НЦ. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Качественная оценка интенсивности роста бактерий штаммов-биодеструкторов на плотных питательных средах с добавлением 5 и 10 % НЦ

Биопрепараты	Интенсивность роста микроорганизмов на плотных питательных средах при концентрации НЦ (%), баллы			
	5%		10%	
	14 сут	21 сут	14 сут	21 сут
Центрин	+	++	-	-
Путидойл	-	-	-	-
Центрум-MMS	+	+++	+	++
Деворойл	±	±	-	-
Дестройл	±	±	-	-
Олеворин	-	-	-	-

Из таблицы 2 следует, что наиболее интенсивно развиваются микроорганизмы на средах с НЦ при использовании таких препаратов как Центрум-MMS и Центрин. Незначительная активность наблюдается у препаратов Деворойл и Дестройл.

Скрининг, производимых в настоящее время в нашей стране биологических препаратов для решения различных экологических задач, позволил установить, что готовых препаратов, созданных на основе описанных видов микроорганизмов, и рекомендованных для борьбы с техногенными отходами химических предприятий, производящих или использующих в своем технологическом цикле НЦ, не существует.

В дальнейшем изучали биодеструктивную (нитроцеллюлозолитическую) активность представленных выше штаммов. Для повышения уровня биодеструктивных свойств в случае использования штаммов в неблагоприятных условиях внешней среды (температура, величина рН, недостаточный уровень аэрируемости и др.), были предложены ассоциации (поликультуры) штаммов-биодеструкторов. Так были сконструированы ассоциации из следующих комбинаций микроорганизмов: *Acinetobacter sp.* и *Pseudomonas fluorescens 2* (ассоциация № 1); *Pseudomonas fluorescens 4* и *Rhodococcus sp. 1* (ассоциация № 2); *Acinetobacter sp.* и *Rhodococcus*

sp. 1 (ассоциация № 3); *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas fluorescens 2*, *Pseudomonas fluorescens 4* и *Rhodococcus sp. 1* (ассоциация № 4).

В качестве препарата сравнения использовали экобиопрепарат «Центрум-ММС» (ассоциация № 5), состоящий из двух видов штаммов-биодеструкторов: *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-6847 и *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-1769.

Удельные концентрации бактериальных клеток в каждой ассоциации были одинаковыми и составляли 10^9 кл.·мл⁻¹. Количество утилизированной НЦ рассчитывали путем вычитания остаточного ее количества из исходного. Степень деструкции определяли по формуле: $D = (M_{исх} - M_{ост}) \cdot (M_{исх})^{-1} \cdot 100\%$, где D – степень деструкции НЦ, в процентах от исходного количества; $M_{исх}$ – исходное количество НЦ в пробе, в мг; $M_{ост}$ – остаточное количество НЦ в пробе, в мг.

Результаты выполненных исследований приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Сравнительная оценка эффективности биодеструктивной активности микроорганизмов и их ассоциаций в отношении нитроцеллюлозы

Культуры и ассоциации микроорганизмов	Степень биодеструкции НЦ на 21 сутки наблюдения, %			
	Концентрация НЦ, %			
	1	3	5	10
<i>Arthrobacter sp.</i>	5±3,9	5±1,7	4±3,8	-
<i>Acinetobacter sp.</i>	9±3,1	9±2,2	8±3,6	-
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	18±3,1	17±1,4	12±3,4	6±3,9
<i>Rhodococcus sp. 2</i>	6±3,8	6±2,2	4±3,4	-
<i>Pseudomonas fluorescens 1</i>	22±3,3	21±1,5	19±3	7±4,2
<i>Pseudomonas fluorescens 2</i>	31±2,5	30±2,2	22±2,4	9±3,8
<i>Pseudomonas fluorescens 3</i>	20±1,8	19±2,1	17±2,7	7±2,9
<i>Pseudomonas fluorescens 4</i>	38±2,8	37±1,4	27±3,2	10±4,4
<i>Acinetobacter sp.</i> и <i>Pseudomonas fluorescens 2</i> (№ 1)	55±2,4	43±1,7	38±2,6	17±3,0
<i>Pseudomonas fluorescens 4</i> и <i>Rhodococcus sp. 1</i> (№ 2)	74±1,0	61±1,4	42±2,8	24±3,1
<i>Acinetobacter sp.</i> и <i>Rhodococcus sp. 1</i> (№ 3)	66±1,2	48±1,8	31±4,3	18±3,9
<i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Pseudomonas fluorescens 2</i> , <i>Pseudomonas fluorescens 4</i> и <i>Rhodococcus sp. 1</i> . (№ 4)	72±1,6	59±1,2	39±1,2	20±3,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ВКМ В-6847 и <i>Rhodococcus erythropolis</i> ВКМ Ас-1769 (№ 5)	75±1,1	63±1,2	40±2,7	22±2,9
Контроль (без культур и ассоциаций микроорганизмов)	0	0	0	0

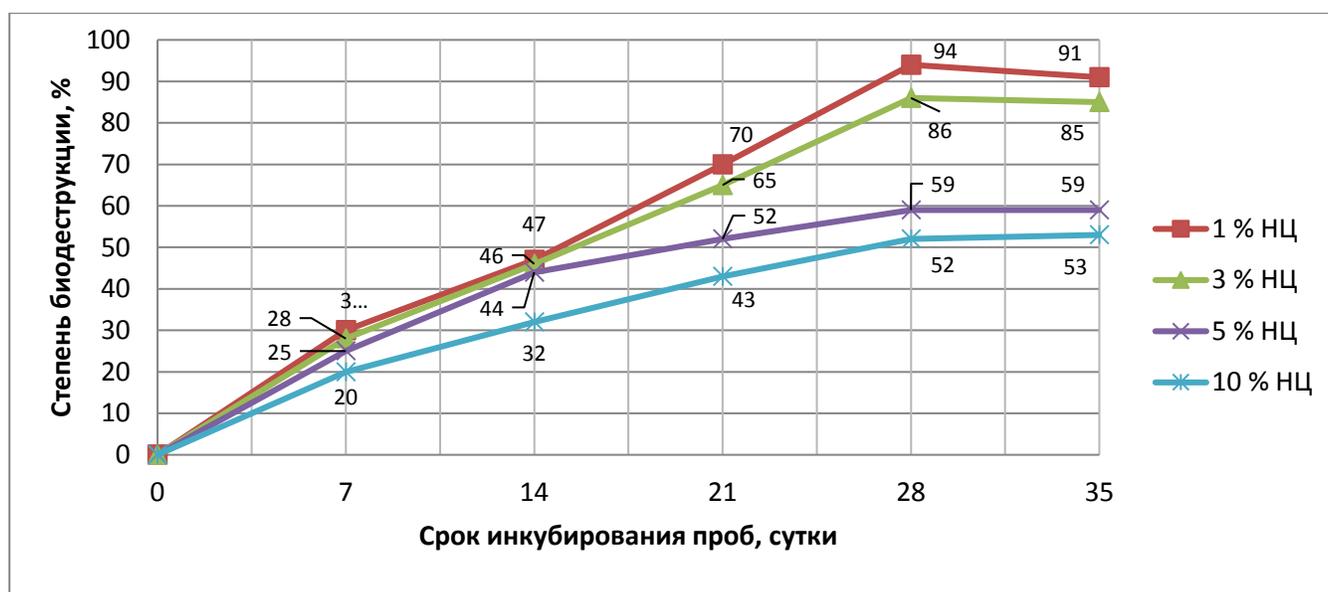
Примечание – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении экспериментальных данных с контролем

Приведенные данные позволяют говорить о наличии у изучаемых культур и ассоциаций микроорганизмов хорошо выраженных биодеструктивных свойств и способности разлагать в экспериментальных моделях НЦ. Сравнительные испытания биодеструктивных свойств в отношении НЦ позволили установить, что наибольшая эффективность обнаружена у ассоциаций №№ 2, 4 и 5.

Одним из наиболее близких к исследуемым ассоциациям биологически активных штаммов, способных утилизировать нитроцеллюлозу, по своему бактериальному составу является разработанный эковиопрепарат «Центрум-ММС» (Патент РФ на изобретение № 2428471 от 11 мая 2010 г.). Эковиопрепарат создан на основе двух видов углеводородоокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1769 и *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-6847 и используется для ремедиации почв и водных поверхностей, загрязненных нефтяными, мазутными и другими углеводородными экотоксикантами.

Изучение биологических характеристик, как самого эковиопрепарата «Центрум-ММС», так и входящих в его состав культур, позволили выявить и экспериментально подтвердить наличие нового, ранее не известного свойства – способности утилизировать нитросоединения. Данное свойство в дальнейшем подтверждено при использовании эковиопрепарата «Центрум-ММС» для разложения несимметричного диметилгидразина (Патент РФ на изобретение № 2650864 от 17 апреля 2018 г.).

На рисунках 1 и 2 представлены результаты оценки эффективности эковиопрепарата для биодеструкции НЦ.



Примечание – в контрольных пробах при исходных содержаниях НЦ равным 1, 3, 5 и 10 % без внесения эковиопрепарата уровень биодеструкции во всех случаях был равен 0.

Рисунок 1 – Влияние концентрации нитроцеллюлозы на динамику ее биодеструкции в лабораторных условиях

Таким образом, внесение эковиопрепарата в реакционную среду приводит к закономерному возрастанию эффективности биодеструкции с 7 на 14 и далее на 28 сутки. Более интенсивное увеличение ($94 \pm 0,2\%$ и $86 \pm 0,2\%$) установлено для экспериментальных систем, в которых концентрация НЦ составляла 1...3% соответственно. После 28 суток наблюдалось снижение биодеструктивной активности.

Оценивали эффективность биодеструкции НЦ в пробах донных отложений прудков-накопителей (рисунок 2).

Полученные данные свидетельствуют о высокой деструктивной активности экобиопрепарата «Центрум-MMS» по отношению к нитроцеллюлозе и перспективности его использования в природных условиях.

В дальнейшем проводили комплекс исследований по изучению влияния различных физико-химических и технологических факторов на процесс деструкции нитроцеллюлозы биологическим способом. В результате установлено, что основными лимитирующими факторами, определяющими эффективность биодеструкции НЦ, являются: концентрация водородных ионов, температура, удельная концентрация биологического препарата, продолжительность воздействия препарата и кратность его применения, уровень аэрируемости, количество вносимых биостимуляторов.

Все экспериментальные исследования проводили в лабораторных условиях на шейкер-инкубаторе KS 4000i в колбах с солевой синтетической средой с использованием экспериментальных моделей (пироксилиновый бездымный порох), содержащих 3% НЦ и биологический препарат в концентрации 10^8 - 10^9 кл.·мл⁻¹.



Примечание – в контрольных пробах при исходных содержаниях НЦ равным 2,1 и 2,5 % без внесения экобиопрепарата уровень биодеструкции во всех случаях был равен 0.

Рисунок 2 – Динамика биодеструкции нитроцеллюлозы донных отложений прудков-накопителей

Максимальный подъем биодеградационной активности зафиксирован при значениях рН 6,2...7,8 (рисунок 3). Дальнейшие исследования проводили в этом диапазоне.

Изучение температурного фактора (рисунок 4) показало, что при увеличении температуры от 5 до 30 °С происходит монотонное увеличение уровня биодеструкции НЦ. Наибольшая эффективность наблюдается при температурах в диапазоне 25...30 °С. При больших температурах степень биодеструкции НЦ снижается,

поскольку *Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas fluorescens* относятся к факультативным психрофилам и свыше 30 °С начинают терять свою активность.



Рисунок 3 – Влияние концентрации водородных ионов на эффективность биодеструкции нитроцеллюлозы

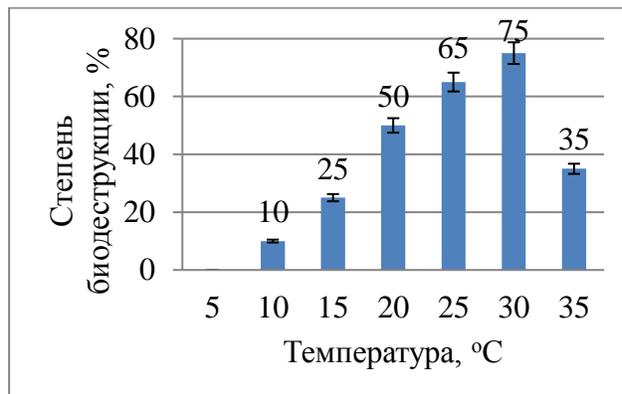


Рисунок 4 – Влияние температуры на эффективность биодеструкции нитроцеллюлозы

В исследованиях при температуре 20 °С, сроке наблюдения равном 21 суткам и использовании от 1 до 7 % экобиопрепарата, было показано, что наибольший уровень биодеструкции НЦ наблюдается при удельной концентрации экобиопрепарата 5 % (рисунок 5). Уменьшение степени биодеструкции при большей концентрации может быть связано с возрастанием конкуренции видов микроорганизмов из-за потребности в питательных веществах. Также дополнительный расход препарата увеличивает затраты на работы по очистке территорий.

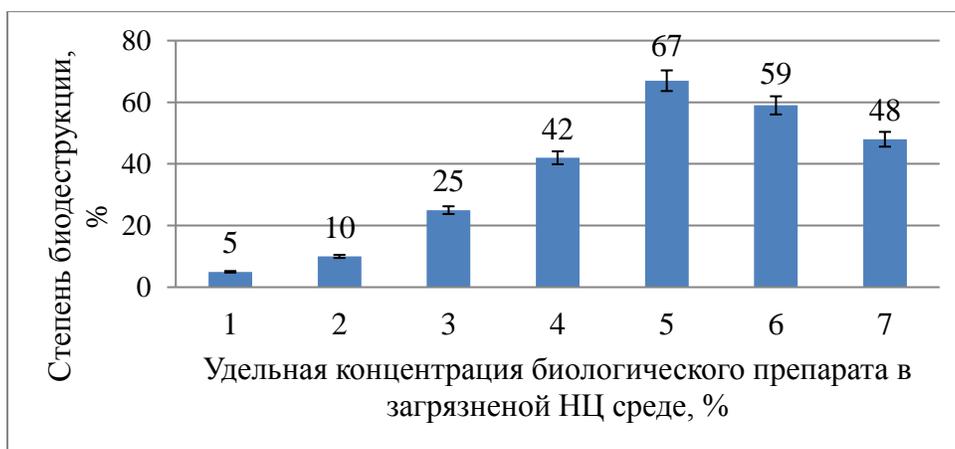


Рисунок 5 – Влияние удельной концентрации экобиопрепарата на эффективность биодеструкции нитроцеллюлозы

На рисунке 6 представлены результаты экспериментальных лабораторных исследований, проведённых при 20 °С и величине pH 6,9, и показывающих, что повторность внесения экобиопрепарата в реакционную увеличивает эффективность биодеструкции НЦ. Наибольшая эффективность достигается на 28 сутки, при этом

уровень биодеструкции НЦ для двухкратных и трехкратных обработок значимо не различался (менее 5 % на 28 сутки).

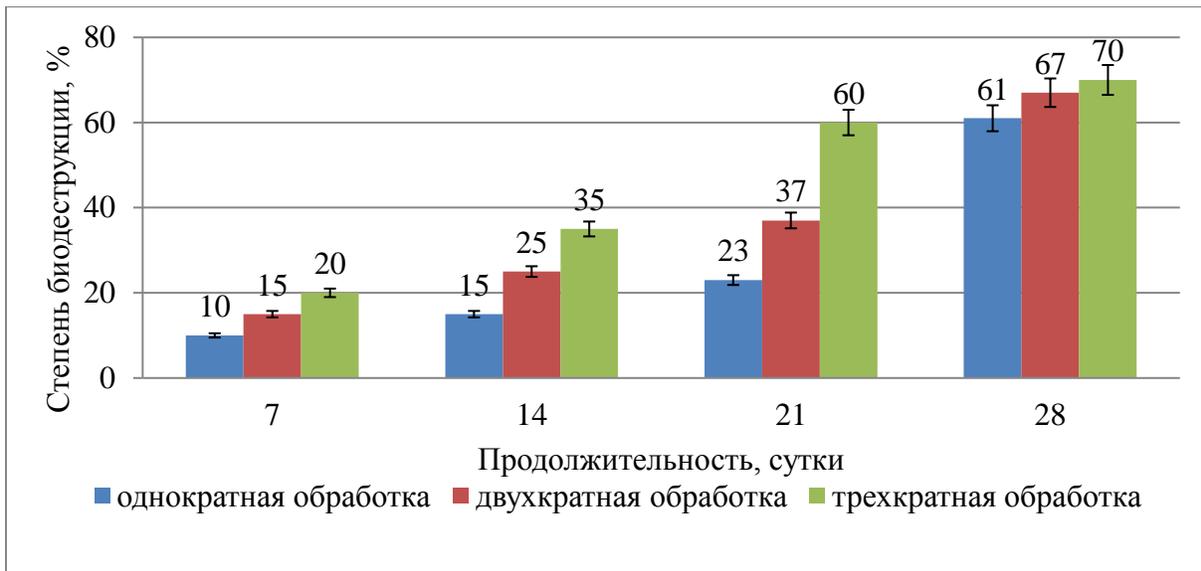


Рисунок 6 – Влияние продолжительности воздействия эко-биопрепарата и кратности его применения на эффективность биодеструкции нитроцеллюлозы

С возрастанием интенсивности аэрации экспериментальной биореакционной среды закономерно повышается уровень биодеструкции НЦ, который достигает максимума при значении $15 \text{ мг} \cdot \text{дм}^{-3}$ растворенного кислорода и далее не снижается, оставаясь на достигнутом уровне до $20 \text{ мг} \cdot \text{дм}^{-3}$ (рисунок 7).

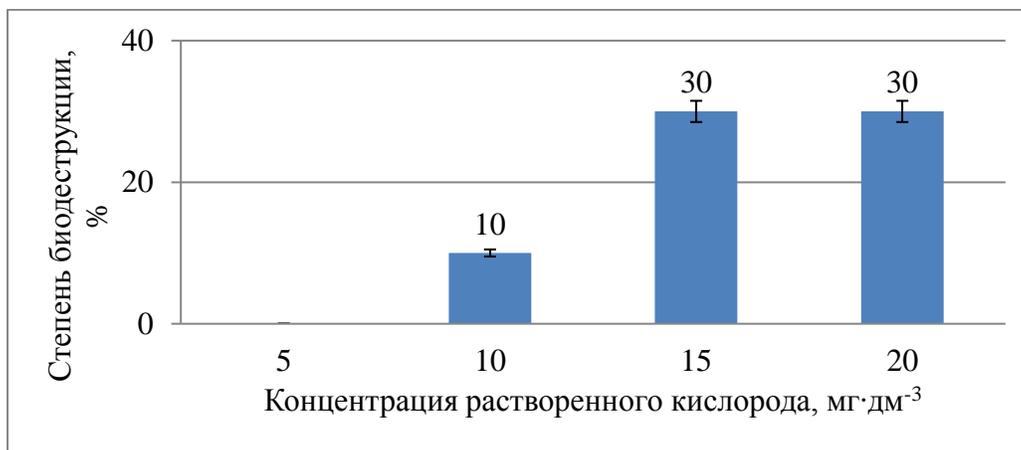


Рисунок 7 – Влияние интенсивности аэрации на эффективность биодеструкции нитроцеллюлозы

На рисунке 8 представлены результаты влияния биостимуляторов на эффективность биодеструкции. Показано, что биологические стимуляторы роста

(суперфосфат и калий хлористый) интенсифицируют процессы биодеструкции нитроцеллюлозы на 10...15 % по сравнению с контрольными значениями.

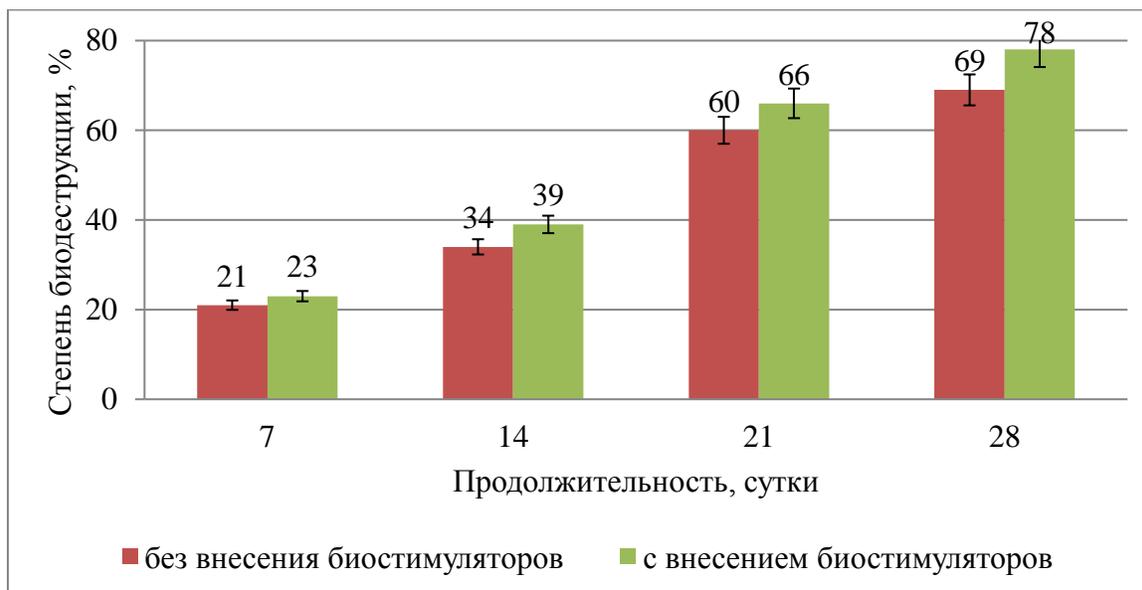


Рисунок 8 – Влияние биостимуляторов на эффективность биодеструкции нитроцеллюлозы

Таким образом, по результатам экспериментальных исследований были установлены величины биотехнологических параметров, обеспечивающие наиболее эффективное применение экобиопрепарата, при содержании 3 % НЦ в среде. Значения рекомендованы для включения в техническую документацию по обезвреживанию загрязненных нитроцеллюлозой прудков-накопителей:

концентрация водородных ионов	6,2...7,8 ед. рН;
температура окружающей среды	25...30 °С;
удельная концентрация биологического препарата (при концентрации $10^7 \dots 10^8$ кл·см ⁻³)	5 %;
продолжительность воздействия препарата	28 сут.;
кратность применения препарата	2...3 раза;
уровень аэрируемости	15...20 мг·дм ⁻³ ;
количество вносимых биостимуляторов:	
суперфосфат гранулированный	5,0 г·дм ⁻³ ;
калий хлористый	1,15 г·дм ⁻³ .

В третьем разделе приводится обоснование технических решений по биологической деструкции нитроцеллюлозы для включения в проектную документацию на рекультивацию прудков-накопителей Режевского химического завода.

Оценивали на экспериментальных моделях комплексное влияние всех изученных факторов на конечные результаты биодegradации нитроцеллюлозы. Использовали пироксилиновый бездымный порох в количестве 3 % в пересчете на НЦ.

Применяли экобиопрепарат «Центрум-MMS», ассоциацию № 2 и № 4. Результаты показывают высокую специфическую активность и деструкцию нитроцеллюлозы до уровня менее $1 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ на 28 сутки. При этом установлено, что эффективность микробиологического разложения нитроцеллюлозы выбранными ассоциациями бактерий биодеструкторов № 2 и № 4 не отличается от специфического воздействия экобиопрепарата «Центрум-MMS», что подтвердило целесообразность его использования в промышленных масштабах.

Обоснованные технические решения включены в техническую документацию на выполнение работ по обезвреживанию загрязненных нитроцеллюлозой прудков-накопителей Режевского химического завода.

В четвертом разделе приведены результаты выполнения работ по обезвреживанию и рекультивации прудков-накопителей от промышленных отходов, содержащих нитроцеллюлозу, на территории ФГУП «Режевской химический завод» биологическим методом.

Ранее проведенными инженерно-экологическими изысканиями установлено, что основное количество нитроцеллюлозы на данном предприятии сосредоточено в двух прудках-накопителях (шламохранилищах) общей площадью 4,8 га, содержащих наряду с НЦ и другие промышленные отходы общим объемом 27800 м^3 и массой 50040 т , в виде донных отложений полужидкой консистенции.

Расчетными показателями определено, что основными загрязняющими веществами в прудках-накопителях являются нитроцеллюлоза (коллоксилин и пироксилин, 625 кг), нефтяные (мазут и технические масла) углеводороды (950 т), окислы металлов, сульфаты и др.

В ходе выполнения биотехнологических работ по ремедиации прудков-накопителей использован препарат «Центрум-MMS» – 50 т , биостимуляторы: суперфосфат – 107 т и хлористый калий – 26 т .

Концентрация НЦ в донных осадках прудков-накопителей Режевского химического завода в результате применения биологического препарата экологического назначения «Центрум-MMS» и выполненного комплекса биоремедиационных работ снизилась до безопасного уровня – менее чем $10^{-6} \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$. Одновременно уменьшился и уровень загрязнения углеводородами до $0,3 \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$, то есть в 10 раз ниже значения ПДК, установленного требованиями нормативных документов. Содержание нитросоединений следующее: нитратов – менее $0,012 \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$ (ПДК для почвы – $0,13 \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$), нитритов – менее $0,004 \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$, аммонийного азота – менее $0,018 \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$, а также азота общего – менее $0,027 \text{ г} \cdot \text{кг}^{-1}$.

По итогам выполненных работ получено положительное официальное заключение № 02-01-20/6084 от 28 октября 2013 г. Департамента Федеральной службы по надзору в сфере природопользования по Уральскому федеральному округу, а также акт сдачи-приемки заключительного пятого этапа работы «Утилизация выведенных из эксплуатации опасных объектов Режевского химического завода», шифр «Реж»,

утвержденный 11 ноября 2013 г. департаментом химико-технологического комплекса и биоинженерных технологий Минпромторга России.

Обезвреживание и рекультивация прудков-накопителей (шламохранилищ) биологическим методом на территории ФГУП «Режевской химический завод», учитывая состав и количество специфических загрязнителей, являлись важной и сложной технологической проблемой, которая ранее в нашей стране не решалась. Внедренный эффективный и безопасный биологический метод ремедиации территорий, загрязненных НЦ, позволяет исключить из практики экологической работы используемый ранее небезопасный и затратный химический метод щелочной нейтрализации нитроцеллюлозы. При этом, показано, что биологический метод примерно в 3,5 раза экономически выгоднее щелочного гидролиза нитроцеллюлозы.

В заключение необходимо отметить, что в современной научной литературе не изучены вопросы механизма специфического действия микроорганизмов-биодеструкторов на обрабатываемые среды.

Основные выводы

1. Обоснованные технические решения позволили в последующем впервые разработать и апробировать метод микробиологической переработки промышленных отходов, содержащих нитроцеллюлозу.

2. Изучена группа почвенных аэробных микроорганизмов родов *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, обладающих ранее не установленной биологической способностью подвергать биохимической деструкции нитроцеллюлозу, используя ее в качестве источника углерода и азота для поддержания своей жизнедеятельности и размножения.

3. Из исследуемой выборки бактериальных культур выбраны наиболее активные штаммы (*Pseudomonas fluorescens* и *Rhodococcus erythropolis*), которые впервые применены в составе биологического препарата экологического назначения «Центрум-ММС» для биодеструкции нитроцеллюлозы.

4. Установлено, что полная биологическая деструкция нитроцеллюлозы с применением экобиопрепарата «Центрум-ММС» происходит при условиях: концентрация водородных ионов 6,2...7,8 ед. рН; температура окружающей среды 25...30 °С; удельная концентрация биологического препарата (при концентрации $10^7...10^8$ кл·см⁻³) 5 %; продолжительность воздействия препарата 28 сут.; кратность применения препарата 2...3 раза; уровень аэрируемости 5...20 мг·дм⁻³; количество биостимуляторов: суперфосфат гранулированный 5,0 г·дм⁻³; калий хлористый 1,15 г·дм⁻³. Рекультивации содержимого прудков-накопителей после биодеструкции нитроцеллюлозы не требуется.

5. Обоснованы и реализованы технические решения для обезвреживания, загрязненных нитроцеллюлозой прудков-накопителей Режевского химического завода. Концентрация нитроцеллюлозы в донных осадках прудков-накопителей Режевского химического завода в результате выполненного комплекса работ снизилась до безопасного уровня – менее чем 10^{-6} г·кг⁻¹.

6. Впервые в Российской Федерации внедрена в промышленных масштабах безопасная технология обезвреживания промышленных отходов предприятия по производству взрывчатых веществ (Режевской химический завод). Решена экологическая задача, на основании которой химический завод исключён из Государственного реестра опасных производственных объектов Свердловской области.

Рекомендации

1. Продолжить научно-исследовательские работы по выделению перспективных микроорганизмов, обладающих денитрифицирующими свойствами в отношении экотоксикантов, содержащих в своей химической структуре нитрогруппы, с целью создания на их основе новых моно- или поликомпонентных биологических препаратов экологического назначения.

2. Осуществить внедрение выбранных технических решений на предприятиях Российской Федерации, использующих в своем технологическом цикле нитроцеллюлозу.

Основные положения диссертации опубликованы в следующих работах:

Статьи в рецензируемых научных изданиях из перечня Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации:

1. Забокрицкий, А.А. Микроорганизмы – биодеструкторы нитроцеллюлозы и перспективы создания на их основе новых эффективных биологических препаратов экологического назначения / А.А. Забокрицкий, Д.Ю. Савиных. М.: Деревообрабатывающая промышленность, 2018. – № 3. – С. 67-71.

2. Забокрицкий, А.А. Обзор современных методов нейтрализации и разложения нитроцеллюлозы / А.А. Забокрицкий, Д.Ю. Савиных. М.: Деревообрабатывающая промышленность, 2018. – № 3. – С. 50-56.

3. Забокрицкий, А.А. Изучение комплекса физико-химических и биотехнологических параметров, обеспечивающих оптимальные условия биологической деструкции нитроцеллюлозы / А.А. Забокрицкий, Д.Ю. Савиных. М.: Деревообрабатывающая промышленность, 2018. – № 4. – С. 90-94.

Патенты по теме диссертационного исследования:

1. Пат. Российская Федерация 2428471, МПК С12N 1/26, В09С 1/10, С02F 3/34, С12R 1/39, С12R 1/01. Экобиопрепарат «Центрум-MMS» для очистки от нефти и нефтепродуктов / Забокрицкий А.Н., Минягин М.С., Забокрицкий Н.А., Забокрицкий А.А.; заявитель и патентообладатель Забокрицкий А.Н. – № 2010118670/10; заявл. 11.05.10; опубл. 10.09.11. – 11 с.

2. Пат. Российская Федерация 2650864, МПК С12N 1/20, С02F 3/34, В09С 1/10. Биологический деструктор несимметричного диметилгидразина / Забокрицкий А.А., Савиных Д.Ю., Тарабара А.В., Зорин А.Д., Забокрицкий Н.А.,

Занозина В.Ф., Хмелева М.В., Савиных С.Д.; заявитель и патентообладатель Забокрицкий А.Н., Савиных Д.Ю., Забокрицкий А.А. – № 2017133569; заявл. 26.09.17; опубл. 17.04.2018. – 12 с.

3. Пат. Российская Федерация 2668811, МПК C12N 1/20, B09C 1/10, C02F 3/34, C12R 1/39. Биологический деструктор нитроцеллюлозы / Забокрицкий А.А., Савиных Д.Ю., Тарабара А.В., Юшков Б.Г., Забокрицкий Н.А., Савиных С.Д.; заявитель и патентообладатель Забокрицкий А.Н., Савиных Д.Ю., Забокрицкий А.А. – № 2017144968; заявл. 20.12.17; опубл. 02.10.18. – 20 с.

Научные труды в прочих изданиях.

1. Забокрицкий, А.А. Перспективы создания новых эффективных биологических препаратов экологического назначения для переработки промышленных отходов, содержащих нитроцеллюлозу / А.А. Забокрицкий, А.В. Вураско // Сборник статей по материалам XVI международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы в науке и практике» (01 апреля 2019 г., г. Самара). В 2 ч. Ч.1/– Уфа: Изд. Дендра, 2019. – С. 96-100.

2. Забокрицкий, А.А. Теоретические исследования по оценке возможности использования биологического метода для разложения и утилизации промышленных отходов, образующихся на предприятиях целлюлозно-бумажной промышленности / А.А. Забокрицкий, А.В. Вураско // Материалы VII Всероссийской отраслевой научно-практической конференции «Перспективы развития техники и технологий в целлюлозно-бумажной и лесоперерабатывающей промышленности», Пермь, 22-23 апреля 2019. – С. 23-30.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью учреждения, просим направлять по адресу: Сибирский тракт, 37, Ученому секретарю диссертационного совета Д 212.281.02, e-mail: d21228102@yandex.ru.

Подписано в печать _____. Тираж 100 экз. Заказ № _____.
ФГБОУ ВО «Уральские государственные лесотехнический университет». 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 37. Отдел оперативной полиграфии.