

## РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТИВНОГО МИКРОБНОГО КОНСОРЦИУМА ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД ОТ БЕТАИНОВЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

О.В. Салищева<sup>1✉</sup>, А.С. Бурлаченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

✉ salishchevaov@mail.ru

**Аннотация.** Для проведения биодegradации токсичных органических компонентов сточных вод актуален отбор штаммов микроорганизмов, которые будут обладать высокой биоразрушающей способностью по отношению к токсичным компонентам. Целью данной работы является анализ эффективности процесса биодegradации кокамидопропилбетаина в условиях многокомпонентной системы бактериальным консорциумом, состоящим из четырех дегradационных штаммов рода *Pseudomonas*, и с использованием консорциума активного ила, полученного из аэротенков действующего предприятия Кузбасса. В качестве тестовых растворов были смоделированы сточные воды молочных перерабатывающих заводов, состав которых приближен к стокам после осуществления стадий механической и флотационной очистки воды на молокоперерабатывающих предприятиях, содержащие поверхностно-активные вещества. Количественные изменения в составе растворов регистрировались с помощью методов физико-химического анализа. На третий день эксперимента микробный консорциум выполнил первичную биодegradацию поверхностно-активного вещества в количестве 65,3 % от исходных значений концентрации. На пятый день содержание поверхностно-активного вещества достигло предельно допустимых значений. Активный ил показал более длительный период адаптации и к третьему дню использовал 48 % поверхностно-активного вещества в качестве питательного субстрата. Основные показатели, определяющие качество очищенных стоков после процесса биодegradации, соответствовали установленным нормам СанПиН 2.1.3684-21. Наличие в системе веществ, характерных для сточных вод молочных перерабатывающих заводов, не оказывает негативного влияния на степень и продолжительность процесса биодegradации бетаинового сурфактанта. Отмечено, что бактериальный консорциум в условиях многокомпонентной системы работает эффективнее, чем бактериальные штаммы по отдельности в условиях чистого раствора сурфактанта.

**Ключевые слова:** очистка сточных вод, микробный консорциум, бактерии рода *Pseudomonas*, поверхностно-активные вещества, бетаиновые сурфактанты, биодegradация

**Для цитирования:** Салищева О.В., Бурлаченко А.С. Разработка и исследование адаптивного микробного консорциума для биологической очистки сточных вод от бетаиновых поверхностно-активных веществ // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2023. Т. 11, № 2. С. 11–21. DOI: 10.14529/food230202

Original article  
DOI: 10.14529/food230202

## DEVELOPMENT AND RESEARCH OF ADAPTIVE MICROBIAL CONSORTIUM FOR BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT FROM BETAINES SURFACTANTS

O.V. Salishcheva<sup>1✉</sup>, A.S. Burlachenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

<sup>2</sup> ITMO University, St. Petersburg, Russia

✉ salishchevaov@mail.ru

**Abstract.** In order to carry out the biodegradation of toxic organic components of wastewater, the selection of the strains of microorganisms which will have high biodestructive capacity in relation to toxic components is relevant. The purpose of this work is to analyze the effectiveness of the process of biodegradation of cocamidopropyl betaine by a bacterial consortium consisting of four degradation strains of the genus *Pseudomonas*, under conditions of a multi-component system. Wastewater from dairy processing plants containing surfactants was selected as test solutions. Quantitative changes in the composition of the solutions were recorded using physicochemical analysis methods. On the third day of the experiment, the microbial consortium performed the primary biodegradation of surfactant in the amount of 65.3 % of the initial concentration values. On the fifth day, the surfactant content reached the maximum permissible values. Activated sludge showed a longer adaptation period and by the third day used 48 % surfactant as a nutrient substrate. The main indicators determining the quality of treated effluents comply with the established standards SanPiN 2.1.3684-21. The presence in the system of substances characteristic of wastewater of dairy processing plants does not adversely affect the degree and duration of the biodegradation process of cocamidopropyl betaine. The bacterial consortium in the conditions of a multicomponent system works more efficiently than bacterial strains separately under conditions of a pure surfactant solution.

**Keywords:** wastewater treatment, microbial consortium, bacteria of the genus *Pseudomonas*, surfactants, betaine surfactants, biodegradation

**For citation:** Salishcheva O.V., Burlachenko A.S. Development and research of adaptive microbial consortium for biological wastewater treatment from betaine surfactants. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2023, vol. 11, no. 2, pp. 11–21. (In Russ.) DOI: 10.14529/food230202

### Введение

В настоящее время работа огромного количества различных отраслей промышленности может оказывать негативное воздействие на экосистему, а значит, и на здоровье человека [1, 2]. Одним из важнейших факторов нормального функционирования биосистем является чистая вода. Неочищенные и плохо очищенные сточные воды повышают концентрации питательных веществ, патогенов, эндокринных разрушителей, тяжелых металлов и фармацевтических препаратов в естественной среде [3].

В связи с этим ежегодно ужесточаются экологические требования к стокам производств: увеличивается стоимость экологиче-

ских платежей, снижается предельно допустимое пороговое предельное значение токсичных веществ в стоках. До 2021 года действовал нормативный документ СанПиН 2.1.5.980-00. С 2021 года документ был изменен на СанПиН 2.1.3684-21. Отмечено ужесточение требований к пороговому предельному значению токсичных соединений в сточных водах. Микробиологические методы очистки являются наиболее предпочтительными с точки зрения финансовых затрат, полноты очистки и минимизации вредного воздействия на экосистему [4].

Немногие отрасли промышленности имеют свои собственные очистные сооружения для очистки сточных вод. В частности,

пищевая промышленность, сточные воды которой загрязнены сложными биоорганическими веществами, токсичными компонентами моющих средств, сбрасывает их в канализационные системы без предварительной очистки. Состав сточных вод зависит от специфики пищевого предприятия. Сточные воды от переработки молочных продуктов представляют собой поток отходов, создаваемый при переработке сырого молока в различные молочные продукты, и составляют большую часть отходов пищевой отрасли. В среднем на каждый литр обработанного молока образуется до 10 л сточных вод, соответственно очистка и утилизация стоков являются весьма актуальными [5].

В состав загрязненных вод молочных перерабатывающих заводов входят различные триглицериды, белки животного происхождения, углеводы, минеральные компоненты, твердые вещества в виде взвесей, хлориды, фосфор, соединения азота, катионные и амфотерные поверхностно-активные вещества (ПАВ), компоненты синтетических моющих средств (сильные щелочи, кислоты) [5]. Таким образом, промышленно-пробные сточные воды представляют собой сложную токсичную многокомпонентную смесь, для сброса которой в канализационные системы или резервуары необходимо проводить серьезную очистку с использованием современных очистных сооружений, а также путем внедрения новых высокоэффективных технологических схем очистки.

Для выбора способа водоподготовки следует учитывать, что в пищевой промышленности первостепенной задачей является определение асептических условий для предотвращения попадания микробных загрязнений в среду, чистота которой должна сохраняться на всех этапах технологического процесса. Поэтому в промышленных производствах необходимо использовать моющие средства, которые должны отвечать ряду требований: обладать выраженным моющим и дезинфицирующим действием и способностью к разрушению, это значит, что они теряют бактерицидные свойства из-за действия физико-химических или микробиологических факторов [6].

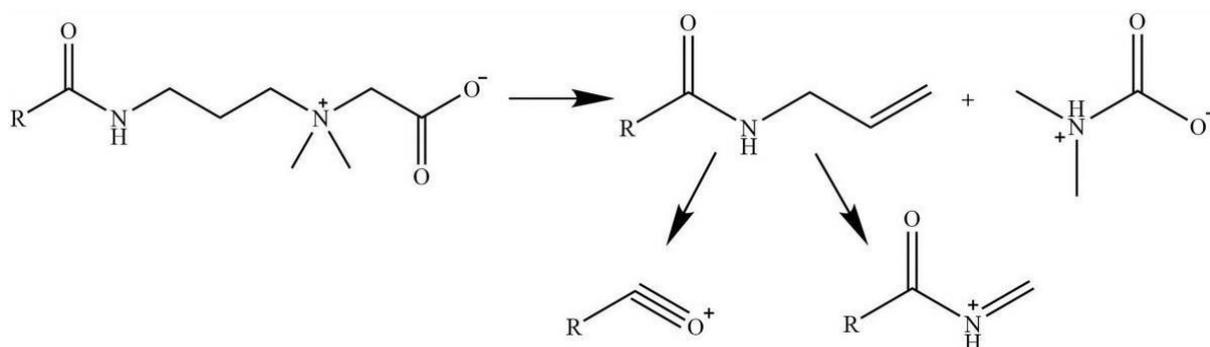
Среди катионных поверхностно-активных веществ, входящих в состав дезинфицирующих средств, особенно широко используется стеарамидопропилдиметиламин. Это веществ-

во очень токсично для живых организмов, может вызвать серьезные повреждения клеточных мембран. Среди амфотерных поверхностно-активных веществ предпочтительно используют производные бетаина, которые также обладают высокой степенью токсичности [7–10]. Наиболее распространенным поверхностно-активным веществом алкиламидобетаина является кокамидопропилбетаин. Благодаря своим поверхностно-активным свойствам и стойкости к окислению, кокамидопропилбетаин широко используется в качестве компонента промышленной, бытовой и косметической продукции. Стабилизирует межфазную поверхность, способствуя образованию агрегатно-нестабильных систем, например пен в поверхностно-активных композициях. Имеются данные и о токсичности кокамидопропилбетаина [10].

Выявлены фрагменты, которые образуются в результате разрушения кокамидопропилбетаина под воздействием физико-химических факторов. Разрушение этого ПАВ приводит к образованию N,N-диметилглицина, который впоследствии распадается на анион уксусной кислоты, аммиак, оксиды азота и углекислые и N-аллиламмониевые формы. Далее производные N-аллиламмония разлагаются на ацил-ион или ион иммония, который является очень токсичным катионом (см. рисунок) [10]. Наиболее безопасным и эффективным методом утилизации ПАВ является биологический метод, так как в процессе ферментативного разложения конечные продукты не представляют опасности для окружающей среды.

Для обеспечения экологической безопасности необходимо модернизировать технологическое оборудование пищевой промышленности и усовершенствовать технологическую схему очистки сточных вод на производствах, это позволит уменьшить количество используемых токсичных моющих средств [11]. Использование принципов циркулярной экономики в производстве продуктов питания было предложено как способ улучшить удержание ресурсов и избежать образования отходов в отрасли жизненной важности [12]. Так, предлагается использование комбинации биологических и мембранных методов, микро- и ультрафильтрационных мембран для очистки загрязненных вод молочных перерабатывающих заводов [13].

Для того чтобы осуществить процесс био-



Разрушение кокамидопропилбетаина под воздействием физико-химических факторов

деградации токсичных органических компонентов в сточных водах, актуален подбор штаммов микроорганизмов, которые будут обладать высокой биоразрушающей способностью по отношению к этому компоненту. Микробиологический состав консорциума определяется химическим составом сточных вод, поскольку некоторые вещества способны ингибировать ферментативные реакции и подавлять жизнедеятельность микроорганизмов [14].

В работе [15] выявлены и изучены штаммы микроорганизмов рода *Achromobacter* и *Brevundimonas*, способных к биодegradации линдана. В структуре генома эти бактерии содержат ген *linA*, который кодирует транскрипт матричной РНК для последующей трансляции фермента дегидрохлориназы. Это указывает на то, что первичной стадией биодegradации линдана является разрыв связи углерод-хлор, катализируемый ферментом класса лиазы. В [16] показано, что штаммы рода *Ochrobactrum* разлагают метаболиты линдана и являются перспективными микроорганизмами для очистки почв. В [17] изучена биоразрушительная активность бактерии *Pseudomonas aeruginosa* по отношению к пирену. С помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией было установлено, уровень экспрессии генов серингидролазы значительно повышался в процессе биодegradации микроорганизмами, что свидетельствовало о первостепенной роли в процессе первичной биодegradации ПАВ ферментов.

В настоящее время бактерии рода *Pseudomonas* рассматриваются в основном как масляные деструкторы, например, в работе [18] была изучена биоразрушительная способность бактерий рода *Pseudomonas* по отношению к жироподобным загрязнениям, и, тем не менее, они преобладают в микробных

консорциумах и могут окислять различные соединения в сточных водах, в том числе поверхностно-активные вещества. Бактерии рода *Pseudomonas*, отобранные для исследования [10], показали наивысшие биоразрушающие характеристики по отношению к кокамидопропилбетаину в условиях чистого двухкомпонентного раствора.

Целью данной работы является анализ эффективности процесса биодegradации кокамидопропилбетаина бактериальным консорциумом, состоящим из четырех штаммов рода *Pseudomonas*, в условиях многокомпонентной системы и высокой концентрации поверхностно-активных веществ.

#### Объекты и методы исследований

**Микробный консорциум.** Объектами исследования являются штаммы бактерий *Pseudomonas* и активный ил. Клеточные линии *Pseudomonas stutzeri* (B-4904) T (Lehmann and Neumann 1896), *Pseudomonas fluorescens* (B-4881) TR (Migula 1895), *Pseudomonas putida* (B-2950) TSH-18 (Trevisan 1889), *Pseudomonas putida* (B-3959) TO (Trevisan 1889) предоставлены Национальным биоресурсным центром Российской национальной коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИГенетика. Активный ил из аэротанков был предоставлен действующим партнером промышленного предприятия Кузбасса (Россия). Активный ил представляет собой комплекс микроорганизмов различных систематических групп, из которых: 50–80 % – бактерии семейства *Pseudomonadaceae*, 5–15 % – бактерии рода *Mycobacterium*, до 30 видов микроорганизмов рода *Bacterium*. Представленные данные исследования микробного состава получены из центральной лаборатории предприятия-партнера. Точный микробный состав

консорциума описан в документе «Постоянный технологический регламент цеха нейтрализации и очистки сточных вод № 36» ОАО «Азот» (г. Кемерово, Российская Федерация).

Для каждой из чистых культур готовили солевую суспензию (0,9 % раствор NaCl) с конечной концентрацией  $10^7$ – $10^8$  КОЕ/мл. Количество колоний определяли с помощью денситометра DEN-1 по мутности клеточных суспензий в пределах значения 0,5 единиц Макфарланда ( $1 \times 10^8$  КОЕ/мл). Для увеличения биомассы деградационных бактерий готовили питательную среду следующего состава: дрожжевой экстракт – 5,0 г/л; пептон – 15,0 г/л; натрия хлорид – 5,0 г/л; бактериологический агар – 15,0 г/л; дистиллированная вода – 1,0 л. Культивирование каждого из штаммов проводили 24 часа в стеклянных конических колбах объемом 100 мл, предварительно инокулируя в среду 1 мл суспензии.

**Сточные воды.** На основе данных о содержании различных органических и неорганических веществ в сточных водах молокоперерабатывающей промышленности после этапов механической и флотационной обработки воды подготовлены модельные растворы сточных вод. Состав растворов представлен в табл. 1.

**Таблица 1**  
**Состав модельных растворов сточных вод**

Показатели	Значения
Нитраты, мг/дм <sup>3</sup>	5
Нитриты, мг/дм <sup>3</sup>	0,2
Фосфаты, мг/дм <sup>3</sup>	20
Сульфаты, мг/дм <sup>3</sup>	250
Хлориды, мг/дм <sup>3</sup>	100
Триглицериды, г/дм <sup>3</sup>	1
ПАВ (бетаиновый сурфактант – кокамидопропилбетаин), г/дм <sup>3</sup>	1,5
Казеин, г/дм <sup>3</sup>	2
Азот аммонийный, мг/дм <sup>3</sup>	30
Ионы тяжелых металлов (Cu <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> ), мг/дм <sup>3</sup>	0,02
Объем раствора, дм <sup>3</sup>	1

#### **Биодеградация поверхностно-активного вещества**

В модельные растворы, приготовленные в объеме 900 мл, были добавлены различные

испытываемые консорциумы: активный ил, штаммы чистых культур *Pseudomonas*.

Культуральную жидкость с бактериальными клетками добавляли в модельные растворы по следующей схеме: в модельный раствор № 1 добавляли активный ил в объеме 100 мл; в модельный раствор № 2 добавляли по 25 мл каждой чистой культуры с концентрацией  $10^7$ – $10^8$  КОЕ/мл.

Исследования для каждой микробиологической системы проводились в семи повторностях. Биоокисление компонентов проводили в шейкер-инкубаторе LSI-3016A/LSI-3016R (Daihan Labtech, Южная Корея) при постоянной температуре 25 °С. Обработку экспериментальных данных проводили с использованием статистического программного пакета MS Excel.

**Анализ сточных вод.** Пробы сточных вод отбирали для анализа каждый день. До определения параметров сточных вод проводили предварительную обработку с использованием центрифуги CV-50 (ELMI, Латвия) и центрифуги/вихря SkyLine (ELMI, Латвия).

Водородный показатель в растворах определяли на pH-метре (Mettler Toledo, США). Количественное определение общего содержания хлора в воде в виде свободного хлорид-иона получено ионометрическим методом с ионоселективным электродом. Определения концентрации ионов хлора в растворах проводили при постоянной ионной силе фонового электролита KNO<sub>3</sub> с концентрацией 1 моль/л. Для построения калибровочного графика использовали растворы хлористого калия в порядке возрастания концентрации ионов хлора от  $10^{-5}$  до  $10^{-2}$  моль/л [19]. Взвешенные твердые вещества количественно определяли с помощью гравиметрического метода. Для определения взвешенных веществ брали пробы объемом 100 мл и фильтровали через предварительно высушенный фильтр. Затем образцы сушили до постоянной массы при  $(600 \pm 15)$  °С и рассчитывали количество взвешенных веществ в расчете на один литр раствора [20].

Степень биодеградации поверхностно-активных веществ определяли путем измерения остаточной концентрации сурфактанта в растворе. Для этого при длине волны 659 нм измеряли оптическую плотность растворов на фоне натрий-фосфатного буфера в присутствии индикатора эриохрома черного Т [21]. Концентрацию аммонийного азота в образцах

определяли с использованием раствора ЭДТА и реактива Несслера. Для подготовки калибровочных растворов в колбы вводили различные объемы раствора соли аммония. Затем добавляли 0,5 мл ЭДТА и 1 мл реагента Несслера и измеряли оптическую плотность при длине волны 430 нм. Образцы сточных вод после биологической очистки готовились аналогичным образом [22]. Определение нитрат-ионов и нитрит-ионов в растворах изучено спектрофотометрическим методом. Для получения градуировочной прямой различные объемы раствора с концентрацией 0,01 мг/мл ионов нитрата вводили в фарфоровые стаканчики, после чего добавляли 1 мл раствора салицилата натрия и выпаривали насухо на водяной бане. Далее добавляли 1 мл серной кислоты с концентрацией 96 %. Через 10 минут добавляли 7 мл раствора NaOH и тартрата натрия калия. Растворы переносили в мерные колбы и измеряли значения оптической плотности при длине волны 410 нм. Образцы сточных вод после биологической очистки готовились аналогичным образом. Для оценки содержания нитрит-ионов был использован метод окисления нитритов до нитратов персульфатом аммония. Разница между полученным общим содержанием нитрат-ионов и исходной концентрацией нитрат-ионов соответствовала концентрации нитрит-ионов [23]. Измерения проводились на спектрофотометре «Shimadzu UV-1700» в диапазоне 190–1100 нм. Оценка содержания тяжелых металлов проводилась с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра (GBC SAVANT AA, Австралия) [24]. Для обеспечения контроля качества были проанализированы эталонные материалы с известными концентрациями ионов цинка и меди.

#### **Результаты и их обсуждение**

В статье [10] изучена кинетика биодеградации бетаиновых поверхностно-активных веществ и найдены наиболее эффективные деградационные штаммы. На основании данных исследования был подобран бактериальный консорциум, состоящий из четырех деструктивных штаммов рода *Pseudomonas*. Результаты определения остаточного количества поверхностно-активного вещества в каждом из модельных растворов сточных вод в течение семи дней приведены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что существуют существенные различия между интенсивностью снижения концентрации поверхностно-

активных веществ при работе разных консорциумов. В системе, в которой деструктором является активный ил, происходит плавное и медленное снижение концентрации поверхностно-активных веществ. Это означает, что активный ил демонстрирует длительный период адаптации к новому токсическому веществу. В системе, в которой деструктором является развитый бактериальный консорциум, наблюдаем более резкое и интенсивное снижение концентрации поверхностно-активных веществ. Консорциум, состоящий из штаммов рода *Pseudomonas*, наиболее приспособлен к исследуемому поверхностно-активному веществу. Таким образом, бактериальный консорциум может являться перспективным деструктором сурфактантов бетаинового ряда.

К седьмому дню эксперимента количественное содержание поверхностно-активного вещества для смеси бактериальных штаммов чистых культур достигло предельно допустимых значений. На седьмые сутки установлено количественное содержание компонентов растворов сточных вод по основным показателям, определяющим качество очищенных стоков, значения определяемых параметров приведены в табл. 3.

По сравнению с изолированными штаммами микробный консорциум имеет большие преимущества благодаря своей более сильной толерантности к субстрату и синергизму различных видов бактерий, содержащихся в консорциуме, и поэтому считается более подходящим для биоремедиации в сложных средах [25].

Например, микробный консорциум, включающий бактерии *Pseudomonas*, *Methylophaga*, *Pseudidiomarina*, *Thalassospira*, *Alcanivorax*, показал отличную способность разлагать полициклическую смесь ароматических углеводородов в широком диапазоне условий [26]. Бактериальный консорциум разложил полициклическую ароматическую углеводородную смесь, состоящую из фенантрена, антрацена, флуорантена и пирена (по 50 мг/л каждая), примерно на 73; 69; 52 и 48 %, соответственно, в течение 21 дня. Данный консорциум продемонстрировал отличную адаптацию к широкому спектру условий окружающей среды.

В исследовании [27] сравниваются показатели очистки сточных вод с помощью микроводорослей и чистых бактериальных штаммов для создания исследовательской дорож-

**Таблица 2**  
Содержание поверхностно-активного вещества в модельных сточных водах в зависимости от длительности процесса биodeградации

Консорциум	Концентрация поверхностно-активного вещества, г/дм <sup>3</sup>						
	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день	6-й день	7-й день
Активный ил	1,21 ± 0,02	0,98 ± 0,03	0,78 ± 0,01	0,55 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,45 ± 0,02	0,34 ± 0,03
Консорциум микроорганизмов рода <i>Pseudomonas</i>	1,05 ± 0,02	0,91 ± 0,04	0,52 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,005	0 ± 0,001

**Таблица 3**  
Параметры модельных сточных вод на седьмой день процесса биodeградации

Индикатор	Активный ил	Консорциум из штаммов чистых культур микроорганизмов рода <i>Pseudomonas</i>
рН исходных растворов	6,85 ± 0,11	6,85 ± 0,11
рН растворов по истечении 7 дней	7,11 ± 0,10	7,23 ± 0,10
Взвешенные вещества, мг/дм <sup>3</sup>	275,00 ± 0,05	234 ± 0,03
Cu <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	0,09 ± 0,001	0,01 ± 0,001
Zn <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	0,007 ± 0,002	0,009 ± 0,002
Хлориды, мг/дм <sup>3</sup>	66,20 ± 0,10	74,20 ± 0,16
Азот аммонийный, мг/дм <sup>3</sup>	0,30 ± 0,02	0,49 ± 0,01
Нитриты, мг/дм <sup>3</sup>	0,042 ± 0,005	0,068 ± 0,004
Нитраты, мг/дм <sup>3</sup>	7,81 ± 0,09	6,09 ± 0,10

ной карты с целью практического внедрения консорциума для очистки различных сточных вод (бытовых, промышленных, агропромышленных и свалочных). По сравнению с чистой системой микроводорослей, система консорциума имеет более высокую эффективность удаления (до 15 %) и более короткое время обработки. Результаты собственных исследований показали эффективность чистых и консорциумных систем очистки сточных вод.

Исследуемый активный ил имеет ферментативный комплекс, субстратом этого комплекса являются соединения с преобладающим числом атомов азота в структуре молекул. Разрушение бетаинового поверхностно-активного ила происходит из-за присутствия четвертичного атома азота в структуре поверхностно-активного вещества. Установлено, что в результате синергетического взаимодействия микробиологическая ассоциация чистых культур показала высокий биоразрушающий эффект по отношению к бетаиновым

органическим веществам. На третий день эксперимента микроорганизмы провели первичное биоразложение поверхностно-активного вещества в количестве 65,3 % от исходных значений концентрации. Активный ил показал более длительный адаптационный период и к третьему дню использовал 48 % поверхностно-активного вещества в качестве питательного субстрата.

В работе [7] исследованы биоразрушающие характеристики семи штаммов деструкторов рода *Pseudomonas*. На седьмой день культивирования в условиях чистого раствора поверхностно-активного вещества остаточная концентрация ПАВ составляла в среднем 0,5250 г/л при начальной концентрации 2,0000 г/л, в то время как для активного ила это значение составляло 0,6494 г/л. В настоящем эксперименте в условиях сложной многокомпонентной системы, близкой по составу стоков молокоперерабатывающей промышленности, при биodeградации поверхностно-

активного вещества адаптивным консорциумом на 7-й день в системе не было обнаружено кокаמידопропилбетаина, что свидетельствует о его полном разложении. Для активного ила это значение составляло 0,3400 г/л. Полученные результаты свидетельствуют о том, что выбранный консорциум, состоящий из отдельных штаммов, обладающих необходимыми ферментами, способен производить разрушение поверхностно-активного вещества в условиях сложной системы более эффективно, чем отдельные штаммы в условиях двухкомпонентной системы. Токсичные и небioresлагаемые тяжелые металлы, такие как Cd, Cu, Cr, Pb, обычно оказывают неблагоприятное воздействие на биodeградацию органических загрязнителей путем ингибирования микробной активности и инактивации ферментов микроорганизмов [25].

Следует также отметить, что ионы металлов  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  не ингибируют ферментативную деградацию загрязняющих веществ. Незначительные колебания содержания ионов  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  могут быть связаны с процессами адсорбции и десорбции на казеиновых и бактериальных белковых компонентах раствора. Содержание взвешенных твердых веществ изменяется из-за количественных различий в росте биомассы, а также использования микроорганизмами в качестве субстрата жировых и белковых фракций.

Для того чтобы понять, насколько важным субстратом для микроорганизмов является азот, необходимо установить концентрации аммонийного азота, нитритов и нитратов. Микроорганизмы, способные полностью утилизировать кокаמידопропилбетаин за 4 дня при совместном культивировании, хорошо известны [28], но только в среде, богатой низкомолекулярными неорганическими азотсодержащими соединениями, поскольку штаммы практически не могут усваивать азот из поверхностно-активного вещества. Это микроорганизмы *Pseudomonas sp.* FV CCM 8810 и *Rhizobium sp.* CCM 8811, выделенные из образца активного ила. Бактерия рода *Pseudomonas* осуществляет первичную биodeградацию и уничтожает алкильный радикал, в то время как штамм *Rhizobium sp.* CCM 8811 является утилизатором остатков алкиламидопропилбетаина. Для проведения быстрого и полного процесса биodeградации этим микроорганизмам необходим доступный источник азота, при проведении опытов в суспензии, не содержащей минераль-

ных компонентов, продолжительность биodeградации составляет 29 дней, что является достаточно длительным периодом [7].

Согласно экспериментальным данным, наблюдается увеличение количества нитратов по сравнению с исходной концентрацией в обоих модельных растворах. Это говорит об активном процессе нитрификации, который начинается с окисления аммония до нитритов, с последующим окислением до нитратов. Суммарные концентрации азотсодержащих ионов соответствуют установленным нормам. Суспензия активного ила характеризуется наибольшим снижением концентрации аммонийного азота.

### **Заключение**

Консорциум, состоящий из штаммов чистых культур рода *Pseudomonas*, оказался наиболее эффективной микробиологической ассоциацией для очистки сточных вод от бетаиновых поверхностно-активных веществ в многокомпонентной системе и продемонстрировал снижение концентрации ПАВ до предельно допустимых значений за семь дней. Установлено, что наличие в системе веществ, характерных для сточных вод молочных перерабатывающих заводов, не оказывает негативного влияния на степень и продолжительность биоразрушающего процесса кокаמידопропилбетаина.

Однако стоит учесть, что процесс биоразрушения протекает семь дней, что в промышленных условиях, возможно, является длительным периодом. В будущем исследования могут быть направлены на изучение адаптации микробного консорциума к кокаמידопропилбетаину, чтобы поверхностно-активное вещество стало первичным субстратом для микроорганизмов. Также целесообразно включить в консорциум одноклеточные организмы. Они метаболизируют сложные органические соединения в более простые вещества, которые являются легкоусвояемым субстратом для бактерий со специфическими ферментами, способными разрывать самую слабую связь в четвертичном атоме азота в бетаиновых поверхностно-активных веществах.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Спонсоры не играли никакой роли в разработке исследования; в сборе, анализе или интерпретации данных; в написании рукописи; или в решении опубликовать результаты.

## Список литературы / References

1. Saravanakumar K., De Silva Sh., Santosh S., Sathiyaseelan A., Ganeshalingam A., Jamla M., Sankaranarayanan A., Veeraraghavan V.P., MubarakAli D., Lee J., Thiripuranathar G., Wang M.-H. Impact of Industrial Effluents on the Environment and Human Health and Their Remediation Using MOFs-based Hybrid Membrane Filtration Techniques. *Chemosphere*, 2022, vol. 307, no. 1, p. 135593. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135593>.
2. Fuller R., Landrigan P.J., Balakrishnan K., et. al. Pollution and Health: a Progress Update. *The Lancet Planetary Health*, 2022, vol. 6, no. 6, p. e535–e547. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(22\)00090-0](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(22)00090-0).
3. Wear S.L., Acuña V., McDonald R., Font C. Sewage Pollution, Declining Ecosystem Health, and Cross-sector Collaboration. *Biological Conservation*, 2021, vol. 255, p. 109010. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109010>.
4. Khalil M., Liu Y. Greywater Biodegradability and Biological Treatment Technologies: A Critical Review. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2021, vol. 161, p. 105211. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105211>.
5. Walsh É., Cialis E., Dillane E., Jansen M. Lemnaceae Clones Collected From a Small Geographic Region Display Diverse Traits Relevant for the Remediation of Wastewater. *Environmental Technology and Innovation*, 2022, vol. 28, p. 102599. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102599>.
6. Sibieva L.M., Degtyareva I.A., Sirotkin A.S., Babynin E.V. Composition of Activated Sludge Microbial Community Used in the Combined Biological and Chemical Wastewater Treatment. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 2019, vol. 9, no. 2, pp. 302–312. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-302-312>.
7. Burlachenko A.S., Salishcheva O.V., Dyshlyuk L.S. Study into Biodegradation of Cocamidopropyl Betaine, an Amphoteric Surfactant, by *Pseudomonas* Bacteria and Activated Sludge. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]*, 2021, vol. 11, no. 3, pp. 441–448. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-441-448>.
8. Vonlanthen S., Brown M.T., Turner A. Toxicity of the Amphoteric Surfactant, Cocamidopropyl Betaine, to the Marine Macroalga, *Ulva lactuca*. *Ecotoxicology*, 2011, vol. 20, no. 1, pp. 202–207. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0571-3>.
9. Nogales L.M., Jiménez L.L., Abarca L.E., Gil M.M., López-Nieves M. Cocamidopropyl Betaine Surfactant 0.075 % Solution in Physiological Serum for Hygiene Process of COVID-19 Intubated Patients. *International journal of pharmaceutical compounding*, 2020, vol. 24, no. 5, pp. 358–364.
10. Burlachenko A.S., Salishcheva O.V., Dyshlyuk L.S., Prosekov A.Y. Investigation of the Kinetic Regularities of the Process of Biodegradation of Betaine Surfactant by Bacteria of the Genus *Pseudomonas*. *Applied Sciences*, 2021, vol. 11, no. 19, pp. 8939. <https://doi.org/10.3390/app11198939>.
11. Yermoshin N.A., Romanchikova Ya.S. A Conceptual Approach to the Scientific Justification of the Modification of Technical Means and Technological Equipment of Food Production. *Modern Science and Innovation*, 2021, vol. 1, no. 33, p. 83–89. <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2021.1.12>.
12. Del Borghi A., Moreschi L., Gallo M. Circular Economy Approach to Reduce Water-energy-food Nexus. *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 2020, vol. 13, pp. 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2019.10.002>.
13. Grakova A.G. Optimization of the Structure Decisions in Designing a Membrane Bioreactor to Increase the Efficiency of Treatment Waste Water of the Dairy Industry. *Modern Science and Innovation*, 2020, vol. 3, no. 31, pp. 121–131. <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2020.3.15>.
14. Bryndina L., Korchagina A. Influence of Wastewater Pollution on Biocenosis of Active Sludge. *Forestry Engineering Journal*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 16–24. <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2020.3/2>.

15. Egorova D.O., Nazarova E.A., Demakov V.A. New Lindane-degrading Strains *Achromobacter* sp. NE1 and *Brevundimonas* sp. 242. *Microbiology*, 2021, vol. 90, no. 3, pp. 392–396. <https://doi.org/10.31857/S0026365621030034>.
16. Nazarova E.A., Pervova M.G., Egorova D.O. Diversity of Culturable Aerobic Bacteria Isolated from Lindane-contaminated Soils. Bulletin of Perm University. *Biology*, 2021, vol. 2, pp. 93–100. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2021-2-93-100>.
17. Swati P.G., Indu Sh.T. Biodegradation of Pyrene by *Pseudomonas* sp. ISTPY2 Isolated from Landfill Soil: Process Optimisation Using Box-Behnken Design Model. *Bioresource Technology Reports*, 2019, vol. 8, p. 100329. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100329>.
18. Korshunova T.Yu., Kuzina E.V., Rafikova G.F., Loginov O.N. Using *Pseudomonas* for Cleaning the Environment from Oil Contamination. *Ecobiotech*, 2020, vol. 3, no. 1, p. 18–32. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-1-18-32>.
19. Muravyeva I.V., Bebeshko G.I. Ionometric Determination of Chlorine and Fluorine in Oil and Gas-bearing Wastewater. Industrial Laboratory. *Diagnostics of materials*, 2022, vol. 88, no. 7, pp. 8–14. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2022-88-7-8-14>.
20. Dubrovskay O.G., Kulagin V.A., Kurilina T.A., Feng-Chen Li. Application of Modified Sorption Material for Efficient Wastewater Treatment of Galvanic Production. *Journal of Siberian Federal University. Engineering and technologies*, 2017, vol. 10, no. 5, pp. 621–630. <https://doi.org/10.17516/1999-494X-2017-10-5-621-630>.
21. Gholami A., Golestaneh M., Andalib Z. A New Method for Determination of Cocamidopropyl Betaine Synthesized from Coconut Oil through Spectral Shift of Eriochrome Black T. *Spectrochimica Acta – Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, vol. 192, pp. 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.007>.
22. Korotkova T.G., Altukhova D.V., Istoshina N.Yu., Demin V.I. Technology of Wastewater Treatment Production of Vegetable Oils and Fats and Evaluation of Aeration Tank Efficiency on the Basis of Microanalysis of Activated Sludge. *Journal of Ecological Engineering*, 2019, vol. 20, no. 7, pp. 70–78. <https://doi.org/10.12911/22998993/109878>.
23. Aluker N.L., Herrmann M.E., Suzdaltseva Y.M. A Spectrophotometric Study of Nitrate and Nitrite Salts and Their Aqueous Solutions. *Optics and Spectroscopy*, 2019, vol. 127, pp. 991–996. <https://doi.org/10.1134/S0030400X19120026>.
24. Dalnova O.A., Bebeshko G.I., Eskina V.V., Baranovskaya V.B., Karpov Yu.A. Modern Methods of Heavy Metal Determination in Waste Water (Review). *Industrial laboratory. Diagnostics of materials*, 2017, vol. 83, no. 6, pp. 5–13.
25. Li M., Yin H., Zhu M., Yu Y., Lu G., Dang Zh. Co-metabolic and Biochar-promoted Biodegradation of Mixed PAHs by Highly Efficient Microbial Consortium QY1. *Journal of Environmental Sciences*, 2021, vol. 107, pp. 65–76. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.02.002>.
26. Muangchinda Ch., Rungsahiranrut A., Prombutara P., Soonglerdsongpha S., Pinyakong O. 16S Metagenomic Analysis Reveals Adaptability of a Mixed-PAH-Degrading Consortium Isolated from Crude Oil-Contaminated Seawater to Changing Environmental Conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, vol. 357, pp. 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.05.062>.
27. Aditya L., Indra Mahlia T.M., Nguyen L.N., Vu H.P., Nghiem L.D. Microalgae-Bacteria Consortium for Wastewater Treatment and Biomass Production. *Science of the Total Environment*, 2022, vol. 838, no. 1, p. 155871. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155871>.
28. Merkova M., Zalesak M., Ringlova E., Julinova M., Ruzicka J. Degradation of the Surfactant Cocamidopropyl Betaine by Two Bacterial Strains Isolated from Activated Sludge. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2018, vol. 127, pp. 236–240. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.12.006>.

*Информация об авторах*

**Салищева Олеся Владимировна**, доктор химических наук, заведующий кафедрой общей и неорганической химии, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», Кемерово, Россия; salishchevaov@mail.ru

**Бурлаченко Анастасия Сергеевна**, инженер лаборатории ДНК-наносенсорной диагностики, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург, Россия.

*Information about the authors*

**Olesya V. Salishcheva**, Doctor of Chemical Sciences, Head of the Department of General and Inorganic Chemistry, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia; salishchevaov@mail.ru

**Anastasia S. Burlachenko**, Engineer of the Laboratory of DNA-Nanosensor Diagnostics, ITMO University, St. Petersburg, Russia.

*Статья поступила в редакцию 06.04.2023*

*The article was submitted 06.04.2023*