

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра физической химии


**МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД,
СОДЕРЖАЩИХ ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА, С ПОМОЩЬЮ
МИКРОБНЫХ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКАЯ РАБОТА

студентки II курса 251 группы
направления 04.04.01 – «Химия»
Институт химии


Мещеряковой Марии Олеговны

Научный руководитель:
д.х.н., профессор


14.06.18

И. А. Казаринов

Зав.кафедрой:
д.х.н, профессор


14.06.18

И .А. Казаринов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и цель работы. Сокращение зависимости от ископаемого топлива и снижение загрязнений – это основные тенденции, заставляющие человечество искать новые источники энергии. Обработка сточных вод – область, в которой две эти цели могут быть совмещены.

Начиная со второй половины 20-го века, проблема очистки сточных вод, является важной для всего человечества. В США на обработку богатых органикой стоков расходуется около 15 гВт мощности электроэнергии (3% всей электроэнергии, производимой в стране), сами же сточные воды содержат 17 гВт мощности электроэнергии.

Утилизируя органическое вещество, которое обычно идет в отходы или теряется в процессах очистки сточных вод, можно получить новый источник электроэнергии. Или же освобождая эту скрытую энергию, которой так богато органическое вещество, в производственных целях, возможно получение биотоплива или чистых химических веществ.

Существует несколько биологических стратегий обработки промышленных и сельскохозяйственных сточных вод:

1. очистка сточных вод с помощью микробных топливных элементов (МТЭ);
2. метаногенное анаэробное ферментативное расщепление органических веществ в сточных водах;
3. ферментативное производство водорода из сточных вод;
4. биологическое химическое производство.

Первые три стратегии производят электричество, метан, водород, а четвертая приводит к ферментативной выработке биохимикатов.

Одним из важнейших достоинств биотопливных элементов является то, что они представляют собой экологически чистые источники электрической энергии. Они работают в умеренных условиях – при температуре и давлении окружающей среды.

Такие технологии, использующие микробные топливные элементы для конвертирования энергии, запасенной в химических связях органических соединений, вызывают огромный интерес в последнее время.

Поэтому **целью работы** является моделирование процесса очистки сточных вод с помощью микробных электрохимических технологий, а также оценка эффективности микроорганизмов *Escherichia coli* и *Enterobacter cloacae*, используемых в качестве биокатализатора в процессе биоэлектрохимического окисления различных субстратов в нейтральных средах.

При этом решались следующие **задачи**:

1. Изучение кинетики биоэлектрокаталитического окисления глюкозы с помощью бактериальных клеток *Escherichia Coli* и *Enterobacter cloacae*
2. Сравнение биоэлектрокаталитического окисления разных органических субстратов с помощью бактериальных клеток *Escherichia Coli*
3. Моделирование процесса очистки раствора в системе медиатор-глюкоза-клетки *Escherichia coli*
4. Оценка кинетических характеристик работы биоэлектрохимической системы медиатор-глюкоза-клетки *Escherichia coli*

Объём и структура работы. ВКР состоит из введения, трех глав, включая литературный обзор, заключение, техники безопасности и списка цитируемой литературы (68 источников). Работа изложена на 62 страницах машинописного текста, иллюстрирована 21 рисунком и содержит 9 таблиц.

Основное содержание работы

Массоперенос играет важную роль в химических реакциях, поэтому проблемам массопереноса в течение многих лет уделялось большое внимание. В ферментативном катализе проблемы массопереноса начали привлекать внимание исследователей в связи с изучением кинетики действия ферментов и микроорганизмов в электрохимических системах.

Гетерогенные превращения на границе раздела фаз (частным случаем которых являются электрохимические реакции) состоят из нескольких последовательных стадий, среди которых обязательными являются: перенос реагирующих веществ к месту реакции, собственно гетерогенного превращения, и отвод продуктов реакции от реакционной поверхности.

С целью изучения кинетики электрохимических процессов, протекающих во внешнедиффузионной цепи, были проведены амперометрические измерения биоэлектрохимического окисления глюкозы бактериальными клетками *Escherichia coli* и *Enterobacter cloacae* на вращающемся дисковом электроде.

Метод вращающегося дискового электрода - один из основных методов экспериментальной электрохимии. С его помощью исследуется механизм, и измеряются кинетические характеристики электрохимических реакций, изучаются объемные химические реакции, сопровождающие электродные процессы, измеряются коэффициенты диффузии растворенных веществ. Возможность осуществления процессов в режиме стационарной конвективной диффузии, строгая количественная зависимость толщины диффузионного слоя от скорости вращения электрода и предельного диффузионного тока от объемной концентрации электроактивного вещества дают широкие перспективы для исследования методом вращающегося дискового электрода электрохимических процессов, протекающих во внешнедиффузионной цепи.

В качестве медиатора был использован метиленовый синий из класса

фенотиазинов. Выбор указанного медиатора основан, во-первых, на том, что он соответствует практически всем требованиям, предъявляемым экзогенным медиаторам, во-вторых, его электрохимические свойства хорошо нами изучены и, в-третьих, окисленные и восстановленные формы используемого медиатора различаются по цвету, что позволяет визуально оценивать эффективность протекания метаболизма субстрата и электрохимического превращения медиатора.

На рисунке 1 приведены потенциостатические кривые анодного окисления метиленового синего на платиновом вращающемся дисковом электроде в рабочем электролите, содержащем $4.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л глюкозы, 2 мг вл. веса/мл клеток *Escherichia coli* и $7.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л медиатора при различных скоростях вращения дискового электрода.

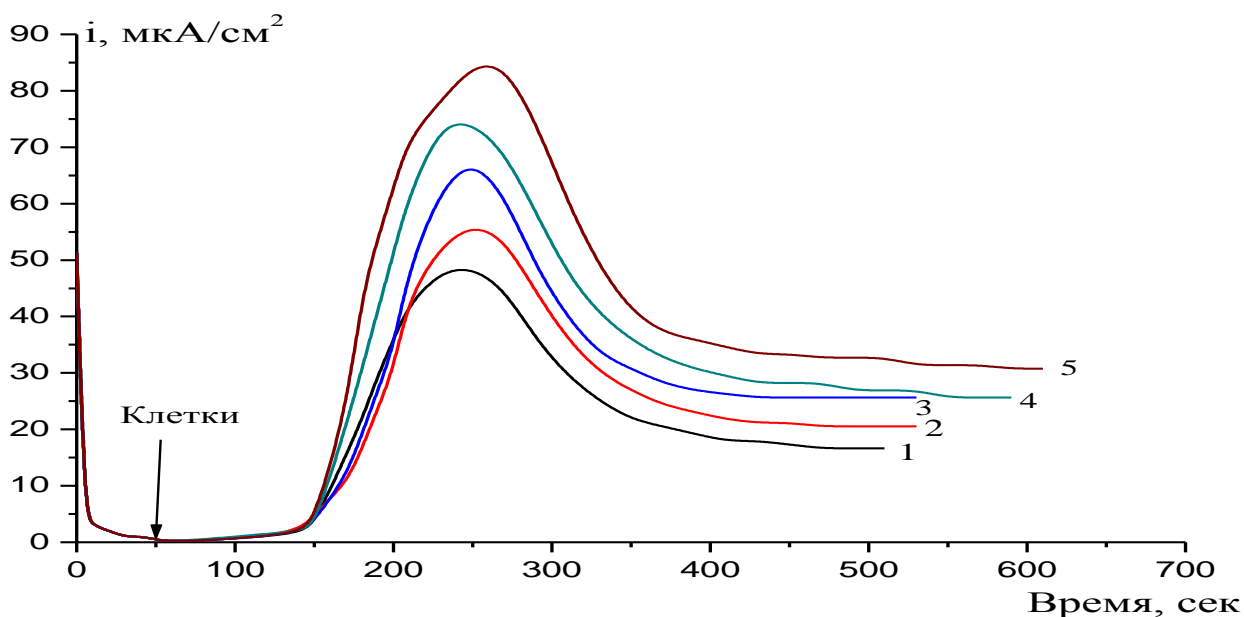


Рисунок 1 - Потенциостатические кривые анодного окисления метиленового синего на вращающемся дисковом электроде в рабочем электролите, содержащем $7.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л медиатора, $4.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л глюкозы и 2 мг вл. веса/мл клеток *Escherichia coli* при различных скоростях вращения (рад/с): 1- 36.6; 2-54.5; 3- 80.64; 4- 104.6; 5- 151.8 при потенциале +0.250 В.

На рисунке 2 приведены потенциостатические кривые анодного

окисления метиленового синего на стеклографитовом вращающемся дисковом электроде в рабочем электролите, содержащем $4.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л глюкозы, $1.5 \cdot 10^9$ клеток/мл *Enterobacter cloacae* и $7.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л медиатора при различных скоростях вращения дискового электрода.

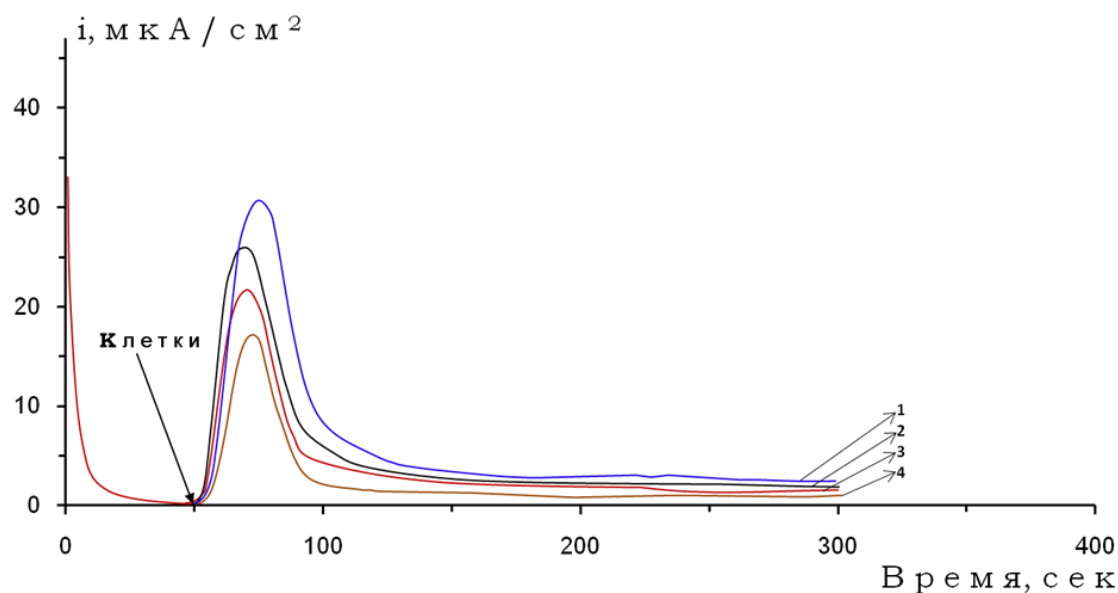


Рисунок 2 - Потенциостатические кривые анодного окисления метиленового синего на вращающемся дисковом электроде в рабочем электролите, содержащем $7.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л медиатора, $4.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л глюкозы и $1.5 \cdot 10^9$ клеток/мл *Enterobacter cloacae* при различных скоростях вращения (рад/с): 1- 104.6; 2-177.9; 3- 251.2; 4- 324.5 при потенциале +0.080 В.

Из рисунков 1 и 2 видно, что при добавлении бактериальных клеток в рабочий электролит начинается резкое возрастание плотности анодного тока, поскольку происходит увеличение концентрации восстановленной формы метиленового синего в объёме раствора, о чем свидетельствует постепенное обесцвечивание электролита. Кривые проходят через максимум, после чего мы видим постепенное снижение плотности тока во времени с выходом на постоянное значение, которое вероятно всего, связано с уменьшением концентрации восстановленной формы медиатора в объёме раствора. Значение максимума плотности тока увеличивается при возрастании скорости вращения дискового электрода.

На рисунке 3 представлена зависимость плотности предельного тока

процесса восстановления метиленового синего клетками *Escherichia coli* и *Enterobacter cloacae* от корня квадратного из скорости вращения дискового электрода.

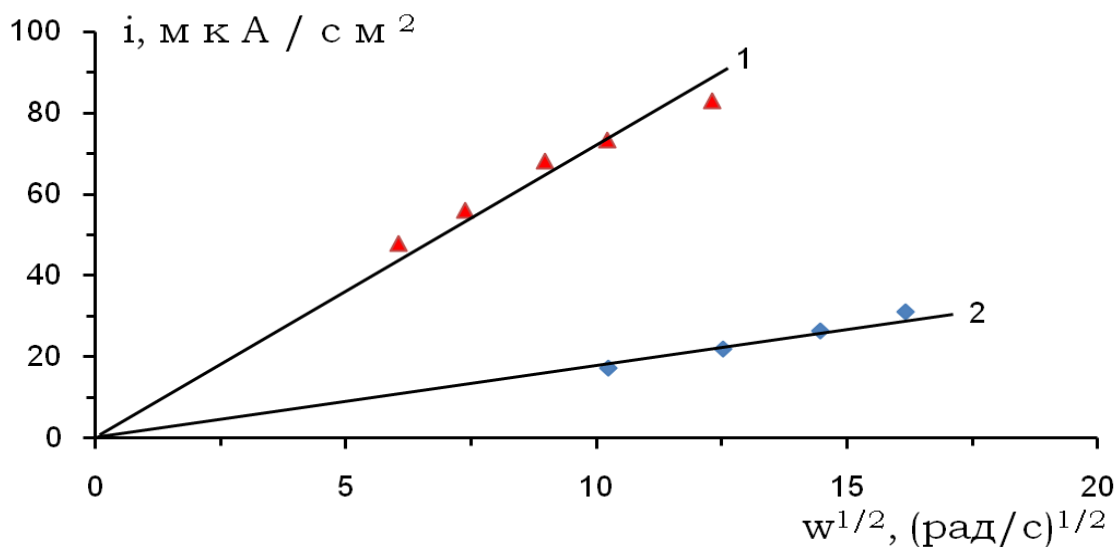


Рисунок 3 - Зависимость плотности тока максимума катодного восстановления метиленового синего клетками *Escherichia coli* (1) и *Enterobacter cloacae* (2) от корня квадратного из скорости вращения дискового электрода.

Как видно из рисунка 3, наблюдается прямая пропорциональная зависимость между плотностью максимума предельного диффузионного тока исследуемого медиатора и корнем квадратным из угловой скорости вращения вращающегося дискового электрода. В этом случае i_d , $\omega^{1/2}$ -кривые легко аппроксимируются прямыми линиями, проходящими через начало координат, что свидетельствует о диффузионной природе процессов восстановления исследуемого медиатора.

Доказанный нами факт, что электрохимическая реакция восстановления метиленового синего из клеток *Escherichia coli* и *Enterobacter cloacae* протекает в режиме диффузионной кинетики дает возможность применить уравнение Левича для определения физико-химической характеристики вещества – коэффициента диффузии исследуемого

медиатора в растворе электролита, содержащего бактериальную суспензию (см. табл. 1).

Таблица 2

Значения коэффициентов диффузии метиленового синего в растворе электролита содержащего бактериальную суспензию

Клетки	$D_{cp} \cdot 10^7, \text{см}^2/\text{с}$
<i>Escherichia coli</i>	4.5 ± 0.2
<i>Enterobacter cloacae</i>	1.3 ± 0.3

Из полученных данных видно, что значения коэффициентов диффузии метиленового синего в представленных экспериментах зависят от природы бактериальной суспензии, используемой в качестве катализатора процесса окисления глюкозы. Это свидетельствует о том, что мы наблюдаем не внешнедиффузионный (диффузия в объеме электролита), а внутридиффузионный контроль, то есть лимитирующей стадией является перенос медиатора через наружную мембрану бактериальной клетки.

Как видно из полученных данных (см. табл. 1), коэффициент диффузии восстановленной формы метиленового синего из клеток *Escherichia coli* в 3.5 раза выше, чем из клеток *Enterobacter cloacae*. В тоже время эти значение много меньше соответствующей величины в свободном объеме раствора $(1.3 \pm 0.1) \cdot 10^{-6} \text{см}^2/\text{с}$. Это указывает на то, что при подборе микроорганизмов в качестве катализаторов биоэлектрохимического окисления субстратов необходимо учитывать механизм переноса медиатора через клеточную мембрану. По этой причине клетки *Enterobacter cloacae* являются менее эффективным катализатором по сравнению с клетками *Escherichia coli* для биоэлектрохимического окисления глюкозы.

Определившись, с эффективным катализатором, мы проводили сравнение биоэлектрокаталитического окисления разных органических субстратов с помощью бактериальных клеток *Escherichia Coli*.

В качестве субстратов были выбраны растворы глюкозы, сахарозы и лимонной кислоты, как модели сточных вод от пищевой промышленности.

Циклические вольтамперограммы снимались при одинаковой скорости перемешивания.

На рисунке 4 представлены вольтамперные кривые фона с добавлением органического субстрата с концентрацией $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

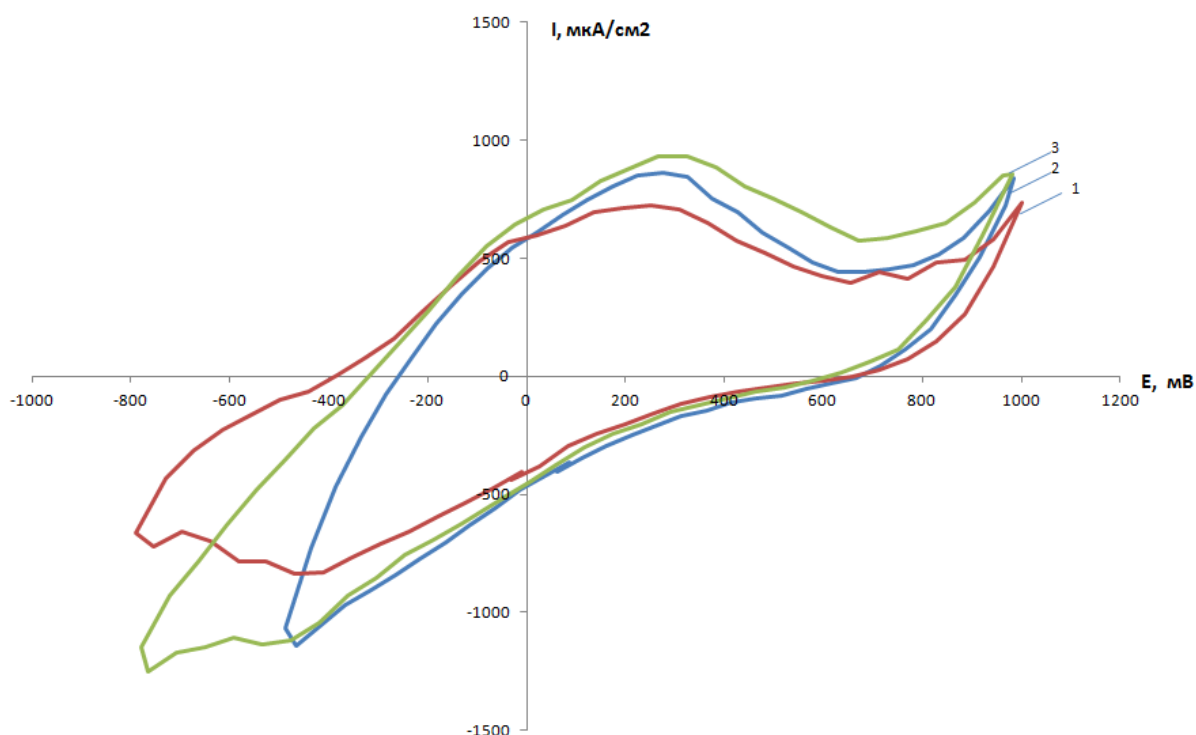


Рис. 4 Циклические вольтамперные кривые углеродистого электрода в рабочем электролите (рН 7.0), содержащем $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л органического субстрата: 1 – глюкоза; 2 – сахароза; 3- лимонная кислота.

При введении в рабочий электролит метиленового синего в анодной области потенциалов появляется широкий анодный пик тока, а в катодной области – катодный ток максимума (рис. 5). Появление анодного пика связано с процессом окисления метиленового синего на электроде, а появление катодного пика связано с его восстановлением по реакции:

(метиленовый синий, $E=0,01$ В)

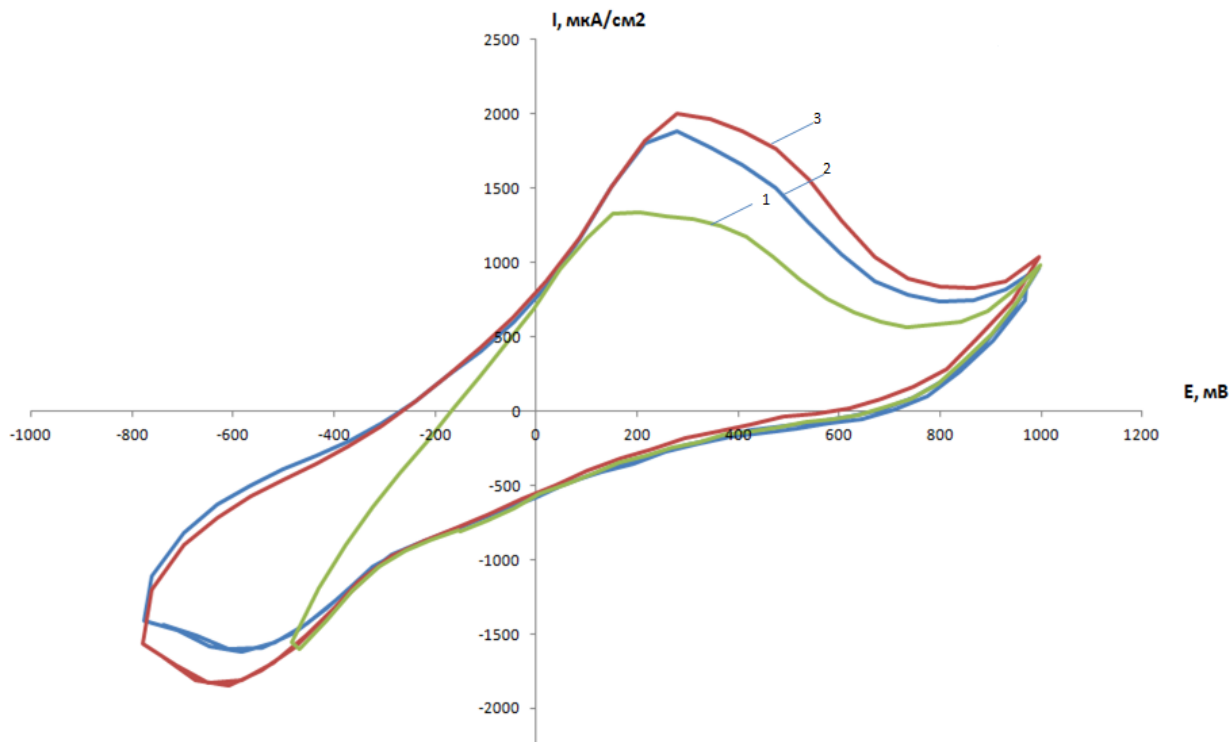
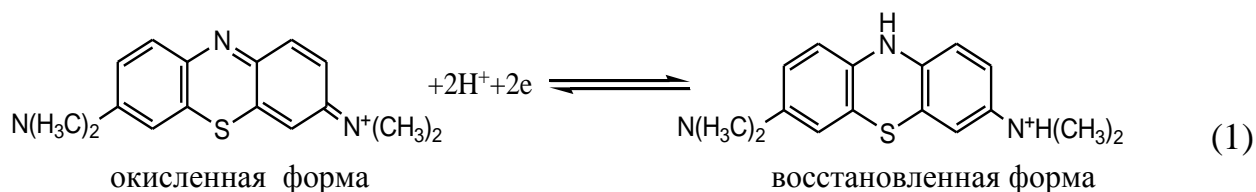


Рисунок 5 – Циклические вольтамперные кривые углеродистого электрода, снятые в рабочем электролите (рН 7.0), содержащем $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л глюкозы и различные концентрации метиленового синего (моль/л):
 1 – $7,5 \cdot 10^{-4}$; 2 – $1 \cdot 10^{-3}$; 3 – $1,5 \cdot 10^{-3}$.

На рисунках 6-8 приведены циклические вольтамперные кривые углеродистого электрода, снятые при одинаковой скорости вращения в рабочем электролите (рН 7.0), содержащем $4,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л органического субстрата, $7,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л раствора метиленового синего и разное количество клеток *Escherichia coli*.

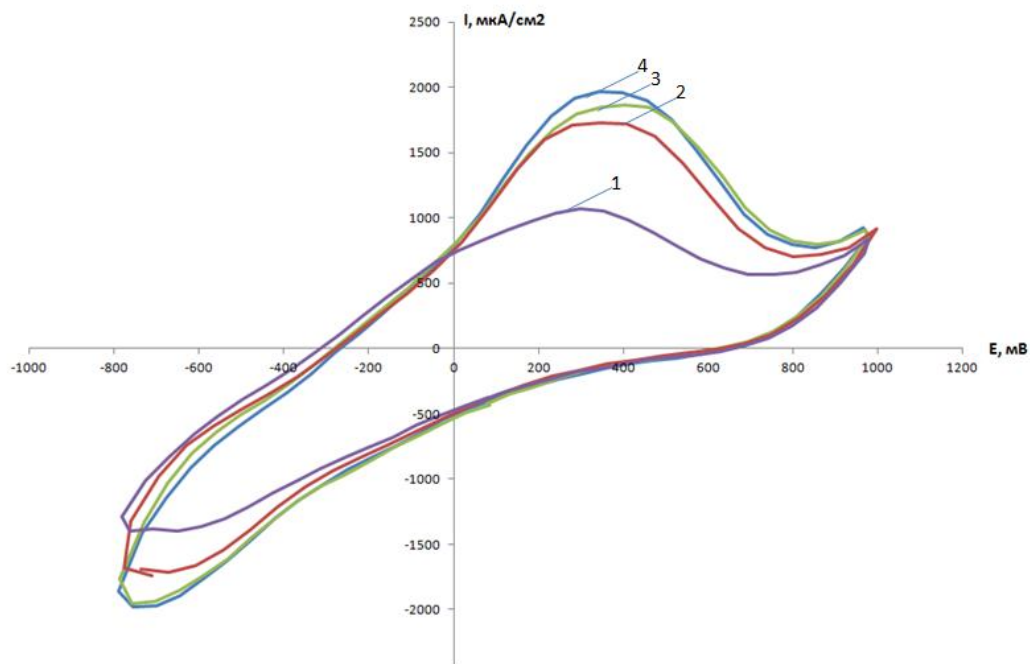


Рисунок 6 – Циклические вольтамперные кривые углеродистого электрода в рабочем электролите (рН 7.0), содержащем $4,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л глюкозы, $7,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л раствора метиленового синего и разное количество клеток *Escherichia coli* ($1 \cdot 10^9$ клеток/мл): 1- без добавления; 2 – 1 мл; 3 – 2 мл; 4 – 3 мл.

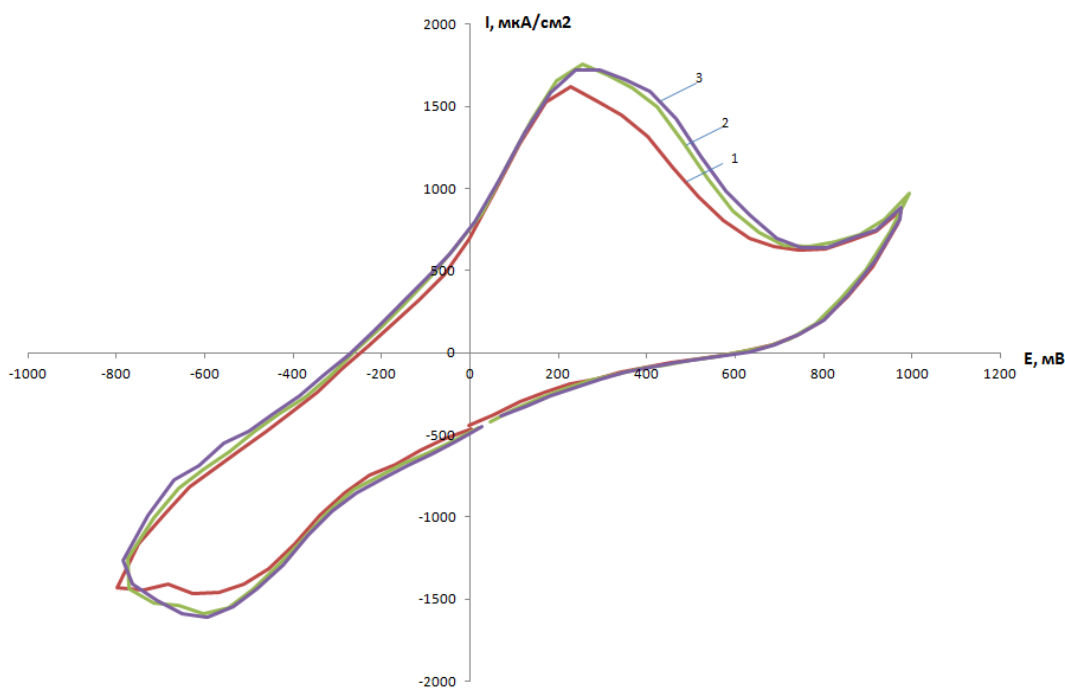


Рисунок 7 – Циклические вольтамперные кривые углеродистого электрода в рабочем электролите (рН 7.0), содержащем $4,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л лимонной кислоты, $7,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л раствора метиленового синего и разное количество клеток *Escherichia coli* ($1 \cdot 10^9$ клеток/мл): 1- без добавления; 2 – 1 мл; 3 – 2 мл

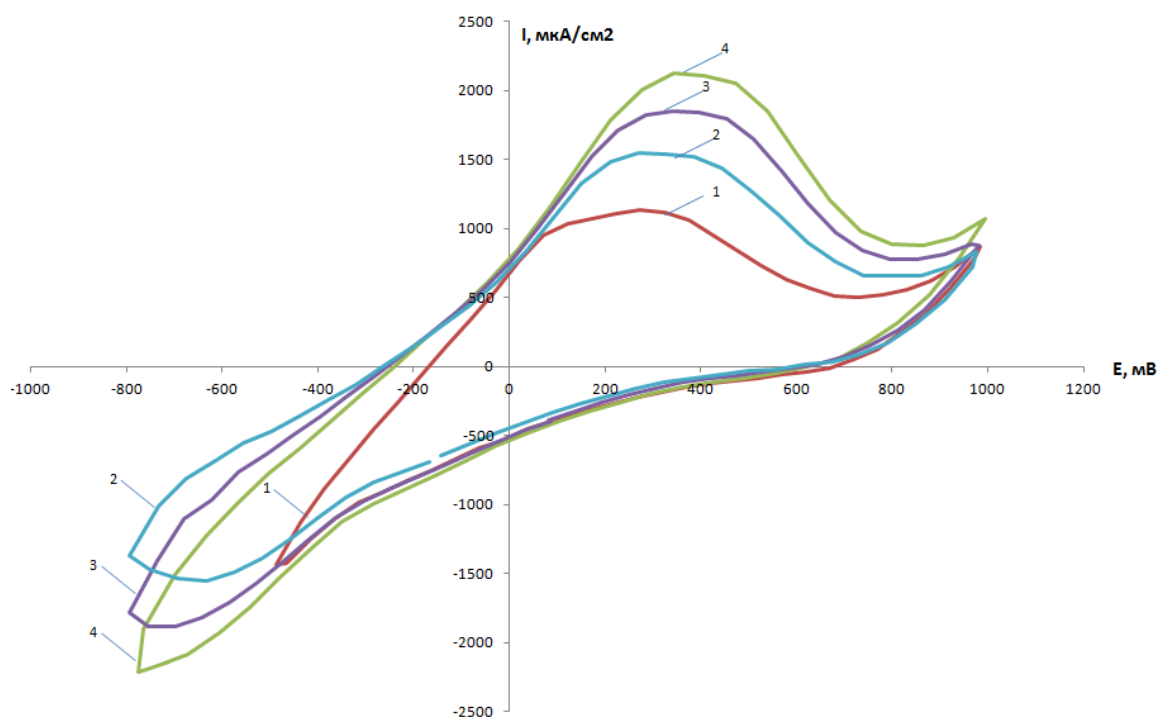


Рисунок 8 – Циклическая вольтамперные кривые углеграфитового электрода в рабочем электролите (рН 7.0), содержащем $4,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л сахарозы, $7,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л раствора метиленового синего и разное количество клеток *Escherichia coli* ($1 \cdot 10^9$ клеток/мл): 1- без добавления; 2 – 1 мл; 3 – 2 мл; 4 – 3мл.

Проведенные исследования показали, что скорость биоэлектрохимического окисления исследуемых органических субстратов зависит от концентрации введенного в систему медиатора. При увеличении концентрации бактериальных клеток *Escherichia coli* также наблюдается увеличение плотности тока максимума на вольтамперных кривых. Самое большое увеличение скорости электрохимического окисления при увеличении концентрации клеток наблюдалось в экспериментах, в которых в качестве субстрата использовалась сахароза.

Нами была смоделирована система очистки сточных вод, содержащих в качестве субстрата глюкозу. Из рис. 9-10 видно, что процесс очистки раствора в системе медиатор-глюкоза-клетки *Escherichia coli* реализуется, концентрация глюкозы постепенно уменьшается с выходом на постоянное значение, которое соответствует значению фонового тока, измеренное ранее.

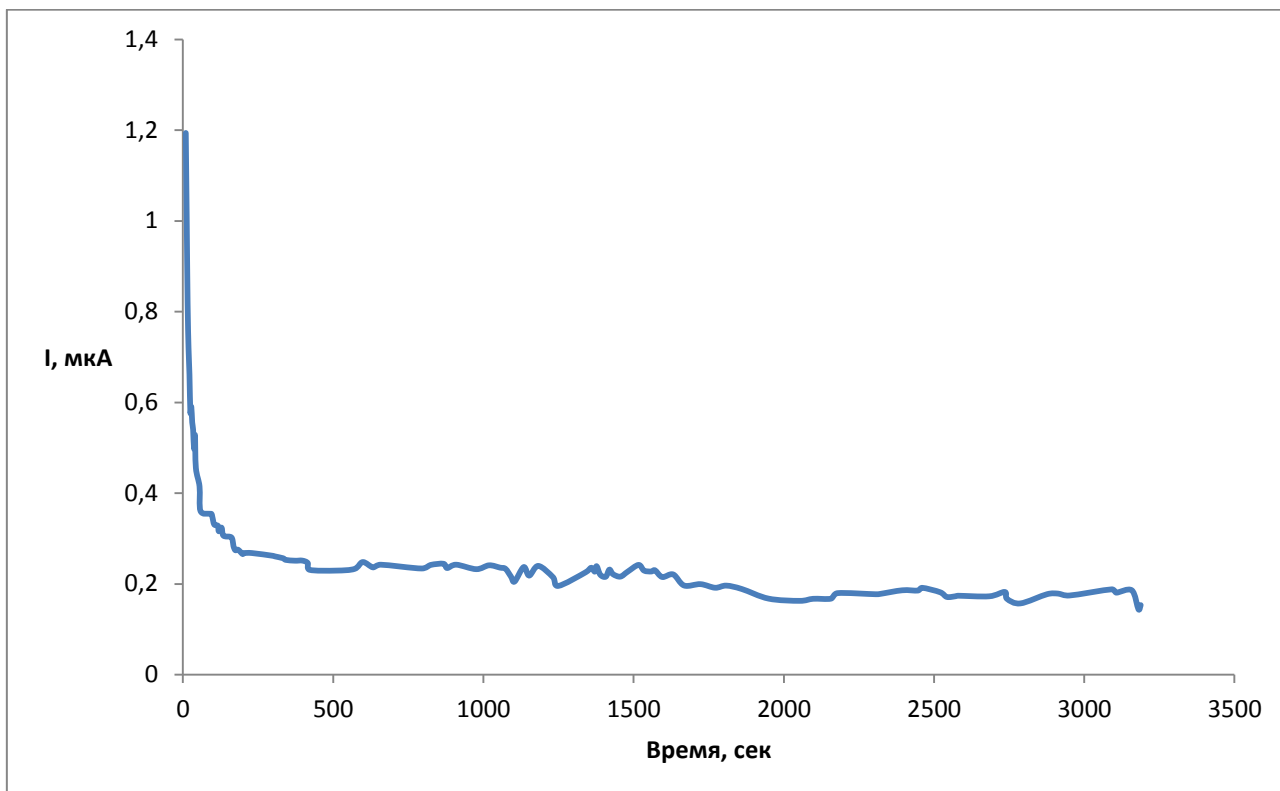


Рис. 9 - Потенциостатическая кривая анодного окисления метиленового синего на плоском графитовом электроде в рабочем электролите, содержащем $7.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л медиатора, $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л глюкозы и 5 мг вл. веса/мл клеток *Escherichia coli* при потенциале +0.40 В в условиях интенсивного перемешивания.

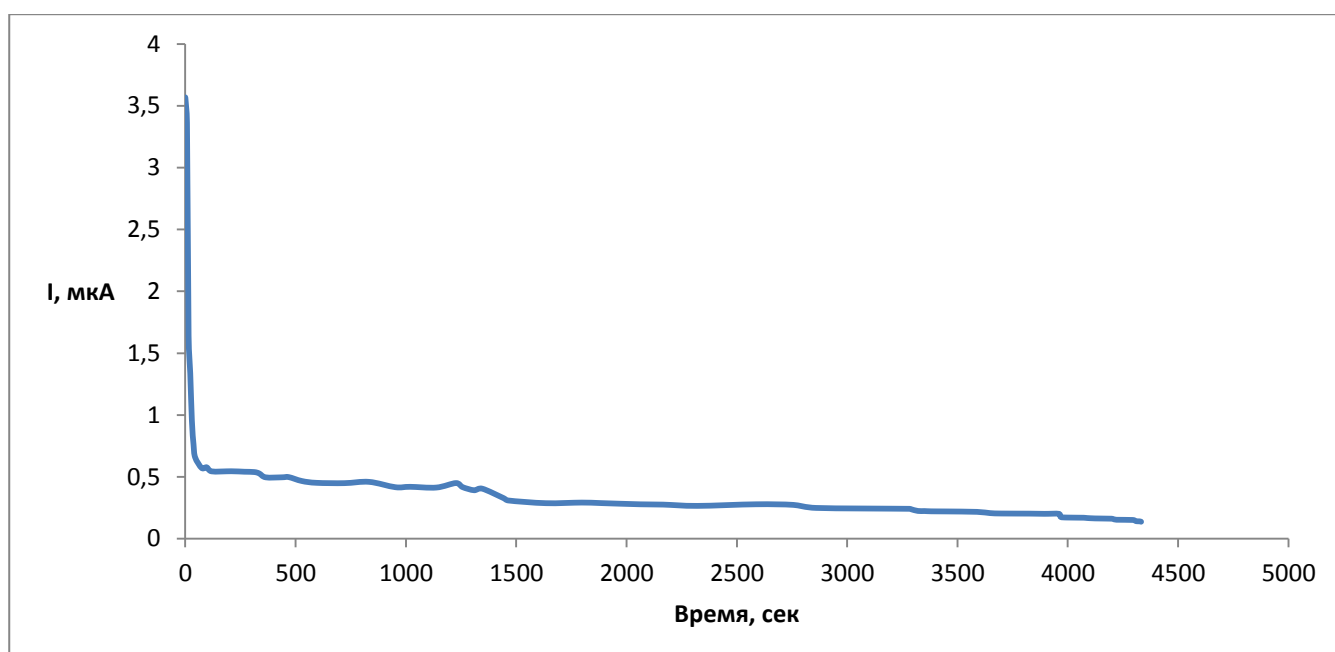


Рис. 10 - Потенциостатическая кривая анодного окисления метиленового синего на плоском графитовом электроде в рабочем электролите, содержащем $7.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л медиатора, $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л глюкозы и 5 мг вл. веса/мл клеток *Escherichia coli* при потенциале +0.40 В в условиях интенсивного перемешивания.

Таким образом, проведенные исследования показали, что данная система биоэлектрохимического окисления исследуемых органических субстратов работает, что наглядно видно из рисунков. Нужно помнить, что процесс зависит от концентрации введенного в систему медиатора. При увеличении концентрации бактериальных клеток *Escherichia coli* также наблюдается увеличение плотности тока максимума на вольтамперных кривых. Лучшее значение в качестве субстрата имеет глюкоза, на основе чего она и была выбрана для наших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изучено поведение исследуемого медиатора в биоэлектрохимической системе «глюкоза – клетки - медиатор – электрод» и показано, что метиленовый синий является обратимым окислительно-восстановительным медиатором и может быть применен при реализации микробного медиаторного анода на основе глюкозы и клеток *Escherichia coli* и *Enterobacter cloacae*.

2. Установлено, что лимитирующей стадией процесса биоэлектрохимического окисления глюкозы в нейтральных средах является диффузия восстановленной формы медиатора (метиленового синего) через клеточную мембрану микроорганизма. Показано, что величина коэффициента диффузии через клеточную мембрану микроорганизмов *Escherichia coli*, которое соответствует значению $(4.5 \pm 0.2) \cdot 10^{-7}$ см²/с в 3.5 раза выше, чем для микроорганизмов *Enterobacter cloacae* $((1.3 \pm 0.3) \cdot 10^{-7}$ см²/с) и, следовательно, клетки *Escherichia coli* являются более эффективным биокатализатором процесса окисления глюкозы.

3. Изучено биоэлектрокаталитическое окисление разных органических субстратов (глюкозы, лимонной кислоты и сахарозы) с помощью бактериальных клеток *Escherichia coli*. Показано, что скорость биоэлектрохимического окисления исследуемых органических субстратов зависит от концентрации введенного в систему медиатора. При увеличении концентрации бактериальных клеток *Escherichia coli* также наблюдается увеличение плотности тока максимума на вольтамперных кривых. Самое большое увеличение скорости электрохимического окисления при увеличении концентрации клеток наблюдалось в экспериментах, в которых в качестве субстрата использовалась сахароза.

4. Модельная система медиатор-глюкоза-клетки *Escherichia coli* работает, концентрация глюкозы постепенно уменьшается до значения фонового тока, что свидетельствует о почти полной очистке.

5. При решении практических задач для повышения эффективности очистки стоков от органических веществ необходима оптимизация

биоэлектрохимической системы как по концентрации медиатора, так и по концентрации бактериальных клеток, либо концентрация клеток должна быть в избытке.