

УДК 628.54:675

ГЛУБИННОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ – ДЕСТРУКТОРОВ ЗАГРЯЗНЕНИЙ СТОЧНЫХ ВОД КОЖЕВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Герман Н.В., Владимирцева И.В., Соколова И.В., Колотова О.В.

ФГБОУ ВПО «Волгоградский государственный технический университет»,
Волгоград, e-mail: pebg@vstu.ru

В условиях стационарного и глубинного аппаратного культивирования определили динамику роста мутантного штамма *Bacillus* sp. TU5 с повышенными ростовыми характеристиками, выделенного из сточной воды кожевенного предприятия. Проведено лабораторное моделирование биологической очистки сточной воды в стационарных и глубинных условиях культивирования. В результате выращивания культуры в стационарных условиях прозрачность сточной воды увеличилась в 15 раз, а в условиях глубинного культивирования в сточной воде с добавлением 2,5% рапы озера Эльтон, способствовавшей интенсификации процесса, – в 24 раза. pH сточной воды в обоих экспериментах изменилась от щелочного значения к нейтральному. Полученные в работе результаты могут быть использованы для повышения эффективности технологии биологической очистки сточной воды кожевенных производств.

Ключевые слова: сточные воды, кожевенные предприятия, бактериальные штаммы-деструкторы

THE SUBMERSED CULTIVATION OF THE MICROORGANISMS-DESTRUCTORS OF THE TANNERY WASTEWATER CONTAMINATIONS

German N.V., Vladimtseva I.V., Sokolova I.V., Kolotova O.V.

Volgograd State Technical University, Volgograd, e-mail: pebg@vstu.ru

The growth dynamics of the mutant strain *Bacillus* sp. TU5 with increased growth characteristics, isolated from the tannery wastewater, was defined in the conditions of the stationary and the submerged hardware cultivation. The laboratory simulation of the biological purification in steady and submerged conditions was carried out. The transparency of the wastewater increased in 15 times during the growth of the bacterial culture in the stationary conditions and it increased in 24 times during the growth in the submerged cultivation with addition of 0,25% the Dead Sea salt concentration. The pH of the medium was changed from the alkali to the neutral value. The results of the research can be used for increasing of the effectivity of the biological tannery wastewater technology.

Keywords: wastewater, tannery, bacterial strains-destructors

Сточные воды кожевенного и мехового производства представляют собой сложные гетерогенные многокомпонентные системы, относящиеся к группе высококонцентрированных и токсичных. Они содержат химические материалы, вносимые для проведения технологического процесса, а также образующиеся в результате переработки кожевенно-мехового сырья. Содержание загрязнений в сточных водах кожевенно-меховой промышленности столь велико, что поступление последних в природные водные объекты может вызвать необратимые процессы, включая полное разрушение сложившейся экосистемы. Это вызывает необходимость совершенствования технологии очистки воды, которая существенно зависит от интенсификации ее обработки.

Наиболее распространенным способом очистки промышленных сточных вод от различных органических веществ является биологический метод, в котором происходит эффективная микробная деструкция загрязнений. По объему перерабатываемых потоков биологическая очистка сточных

вод является самой крупнотоннажной технологией и применяется на подавляющем большинстве очистных сооружений. Биологический метод чаще всего основан на непрерывном управляемом глубинном культивировании специфических для каждого производства бактериальных штаммов, использующих загрязнения в качестве источников питания и энергии. Интенсивность очистки во многом зависит от скорости роста и потребления субстрата микробными клетками – деструкторами загрязнений [2]. В связи с этим повышение интенсивности роста бактериальных культур, осуществляющих биологическую очистку сточных вод, является актуальной задачей экологической биотехнологии.

Целью работы было проведение лабораторного моделирования биологической очистки сточной воды кожевенного предприятия при стационарном и глубинном аппаратном культивировании бактериального штамма-деструктора органических загрязнений.

В экспериментальной работе был использован клон бактериального штамма

Bacillus sp. TY5 с повышенными ростовыми характеристиками, который был получен нами ранее путем мутагенеза и селективного отбора культуры, выделенной из сточной воды кожевенного завода [1, 3].

Для лабораторного моделирования биологической очистки применяли сточную воду из коллектора кожевенного предприятия, предварительно удалив взвешенные частицы путем центрифугирования в течение 20 мин при 3500 об/мин на центрифуге СМ-6 МТ (ЕЛМИ Латвия) [4].

При стационарном выращивании пробу сточной воды в пробирках в объеме 3 мл засеивали 0,1 мл суточной культурой бактериального штамма в концентрации 10^9 микробных клеток в мл. Посевы инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Для более адекватной оценки качества воды после завершения культивирования пробу освобождали от биомассы микроорганизмов путем центрифугирования. Прозрачность очищенной воды определяли оптическим методом, регистрируя уровень светопропускания проб воды на фотоколориметре КФК-2-УХЛ-4.2 при длине волны светофильтра 670 нм в кюветках с длиной оптического пути 5,065 мм.

В качестве контрольного образца использовали сточную воду, не засеянную микроорганизмами. Кроме того, оценивали из-

менение водородного показателя (рН) проб воды до и после процесса ее лабораторной очистки с использованием рН-метра Hi2215 (HANNA Hi instruments Германия). Результаты проведенных экспериментов представлены в таблице.

Данные, приведенные в таблице, позволяют заключить, что в результате стационарного выращивания полученного клона культуры *Bacillus* sp. TY5 произошло осветление сточной воды в 15 раз. При этом наблюдали снижение рН среды от щелочного значения к нейтральному, что тоже является положительной стороной биологической очистки.

На первом этапе моделирования биологической очистки сточной воды в условиях глубинного аппаратного культивирования определяли динамику роста штамма *Bacillus* sp. TY5 в биореакторе BIOTECH 1607 POLYFERM (фирма LKB, Швеция) с объемом культурального сосуда 500 мл в минимальной жидкой питательной среде, содержащей 1% пептона и 0,89% хлорида натрия. Параметры культивирования: скорость механической мешалки – 200 об/мин, подача воздуха – 0,5 л/мин, посевная доза составляла 10^5 микробных клеток суточной культуры на 1 мл питательной среды. Результаты эксперимента приведены на рис. 1.

Результаты лабораторного моделирования биологической очистки сточной воды кожевенного производства при стационарном культивировании

Наименование пробы	Оптическая плотность среды, усл. ед.	рН пробы
Неочищенная сточная вода	$0,120 \pm 0,002$	8,82
Очищенная сточная вода	$0,008 \pm 0,0005$	7,20

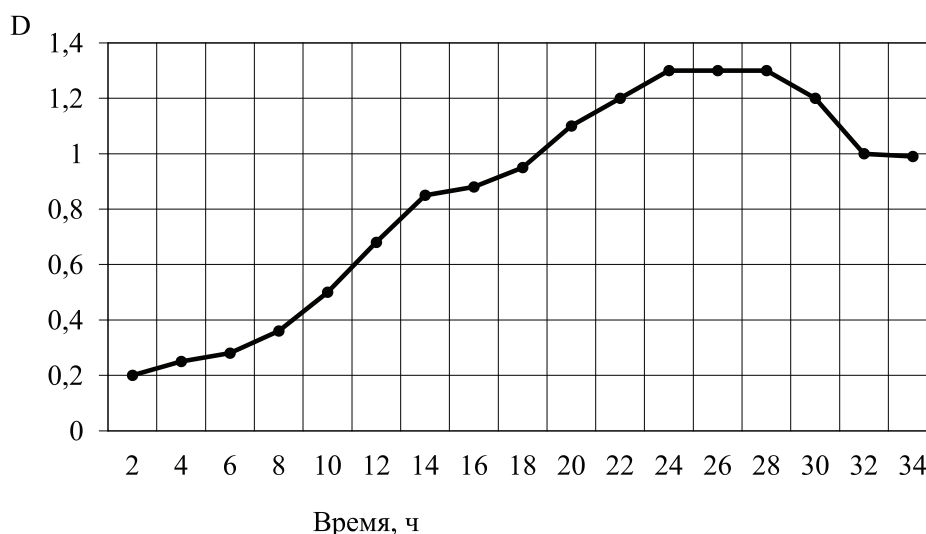


Рис. 1. Динамика роста штамма *Bacillus* sp. TY5 при глубинном аппаратном культивировании в жидкой питательной среде

Результаты эксперимента, приведенные на рис. 1, свидетельствуют, что после непродолжительной лаг-фазы (2 часа) культура начинала интенсивно размножаться, фаза логарифмического роста длилась до 23 часов с момента начала эксперимента. Максимальная концентрация биомассы достигла $6 \cdot 10^9$ м.к./мл. После 27 часов выращивания наступила фаза гибели клеток.

Таким образом, было установлено, что использованный нами в эксперименте бактериальный штамм может интенсивно размножаться в условиях глубинного аппаратного культивирования в минимальной жидкой питательной среде. Время его культивирования в этих условиях не должно превышать 26–27 часов.

Для изучения возможности использования бактериального штамма-деструктора для моделирования биологической очистки сточной воды в глубинной культуре осуществляли культивирование бактерий в биореакторе. В качестве питательной среды применяли сточную воду кожевенного завода с добавлением в нее 2,5% рапы озера Эльтон, поскольку проведенные ранее исследования показали, что внесение этой природной минеральной добавки позволяет повысить интенсивность роста и размножения данного бактериального штамма на 213% [5, 6]. Температура культивирования – 22°C, длительность – 36 часов, подача воздуха – 0,5 л/мин. Через каждые 2 часа производили отбор проб, регистрируя уровень светопропускания культуральной среды на фотоколориметре. Концентрацию выросшей биомассы высчитывали из данных оптической плотности проб, используя со-

ставленный ранее калибровочный график по известной концентрации клеток данного штамма. Результаты проведенного эксперимента представлены на рис. 2.

Приведенные на рис. 2 результаты свидетельствуют, что наибольшее количество биомассы было получено к 27–31 часу с момента начала культивирования в сточной воде, в которой единственным источником питания культуры являлись присутствующие в ней загрязнения.

Оптическая плотность неочищенной сточной воды до начала выращивания культуры составляла 0,120. В результате проведенного глубинного культивирования после удаления биомассы путем центрифугирования эта величина снизилась до 0,005. Таким образом, увеличение прозрачности воды произошло в 24 раза. Осветление воды при глубинном выращивании культуры *Bacillus* sp. ТУ5 была в 9 раз выше, чем соответствующая величина, полученная после стационарного культивирования.

Наряду с контролем количества выросшей при глубинном выращивании биомассы оценивали и динамику изменения рН очищаемой воды, что является важной характеристикой биологической очистки. Полученные в экспериментах результаты представлены на рис. 3.

Приведенные на рис. 3 данные свидетельствуют о том, что при выращивании культуры *Bacillus* sp. ТУ5 глубинным способом в ферментере произошло снижение рН сточной воды от щелочного значения (8,5) до нейтрального (7,2), что является положительным результатом при ее биологической очистке.

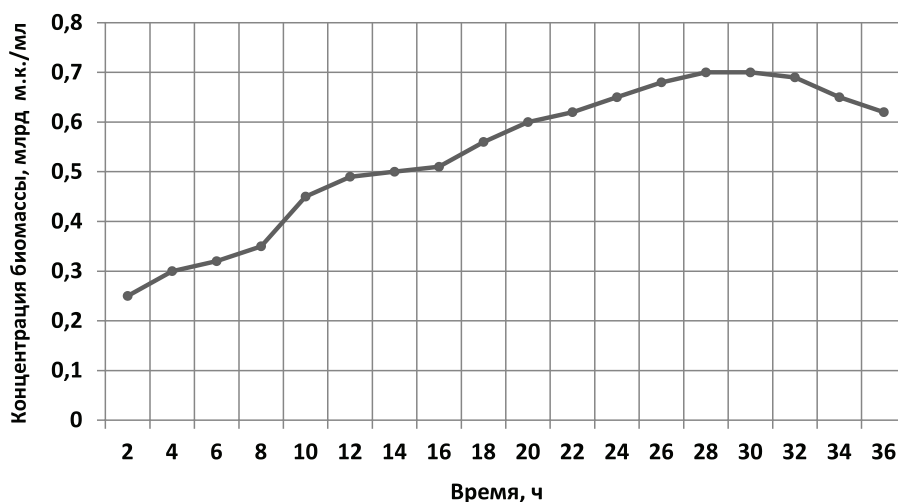


Рис. 2. Результаты лабораторного моделирования очистки сточной воды штаммом *Bacillus* sp. ТУ5 при глубинном аппаратном культивировании

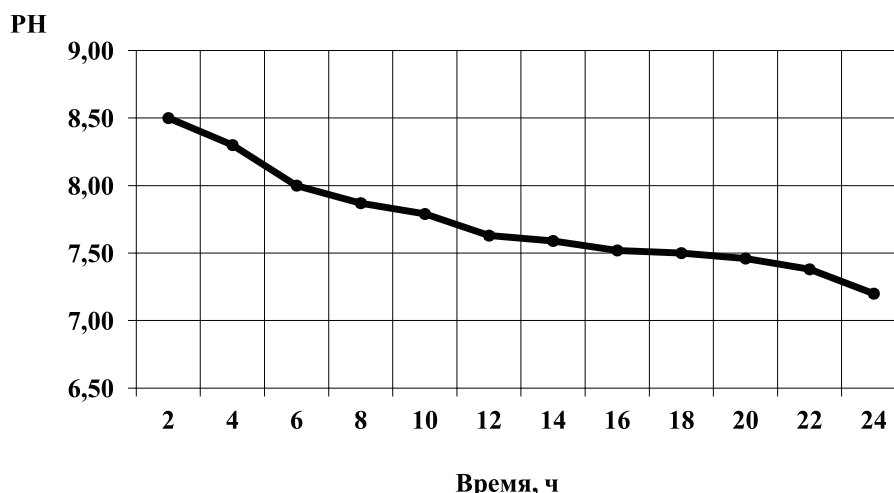


Рис. 3. Динамика pH культуральной среды при глубинном культивировании штамма *Bacillus sp. TV5* в сточной воде

В наиболее распространенных промышленных сооружениях – аэротенках – эффективная очистка сточных вод осуществляется в глубинных условиях при интенсивном перемешивании воздухом сточной воды и активного ила, содержащего микроорганизмы – деструкторы загрязнений. Поэтому полученные в работе экспериментальные результаты могут быть использованы для совершенствования технологии биологической очистки сточной воды кожевенных производств в промышленных условиях.

Список литературы

1. Бусов А.Н. Клонирование и селекция бактериального штамма, осуществляющего очистку сточных вод кожевенного производства / А.Н. Бусов, Н.В. Герман, И.В. Владимцева // Экологически безопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы: матер. всерос. молодежной науч.-практ. конф. с междунар. участием (г. Улан-Удэ, 12–14 мая 2011 г.). – Улан-Удэ, 2011. – С. 83–85.
2. Владимцева И.В. Возможности индивидуальных штаммов / И.В. Владимцева, О.В. Колотова, И.В. Соколова, Н.В. Герман // Вода Magazine. – 2013. – № 4. – С. 44–46.
3. Герман Н.В. Выделение и изучение свойств бактериального штамма, осуществляющего очистку сточных вод кожевенного производства / Н.В. Герман, И.В. Владимцева // Современные проблемы и пути их решения в науке, транспорте, производстве и образовании 2010: сб. науч. тр. по матер. междунар. науч.-практ. конф. (20–27 дек. 2010 г.). – Т. 33. – Одесса, 2010. – С. 10–12.
4. Герман Н.В. Лабораторное моделирование биологической очистки сточных вод кожевенного производства / Н.В. Герман, И.В. Владимцева, И.В. Соколова, С.Н. Орлова // Естественные и технические науки... – 2014. – № 4. – С. 32.
5. Колотова О.В. Использование природных неорганических веществ для интенсификации биотехнологических процессов / О.В. Колотова, И.В. Владимцева, Н.В. Герман, И.В. Соколова // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16. – Вып. 23. – С. 132–135.

6. Колотова О.В. Применение природных неорганических веществ для интенсификации биотехнологических процессов / О.В. Колотова, И.В. Владимцева, А.С. Редько, М.П. Чернобровкина // Известия ТулГУ. Естественные науки. Серия. Науки о земле. Вып. 2. – Тула, 2008. – С. 234–238.

References

1. Busov A.N., German N.V., Vladimtseva I.V. *Mater. vse-ross. molodezhnoy nauch.-prakt. conf. s mezhdunar. uchastiem «Ekologobezopasnye I resursosberegayushchie tekhnologii I materialy»* («Ecologically safe and resource-saving technologies and materials»), Ulan-Ude, 2011, pp. 83–85.
2. Vladimtseva I.V., Kolotova O.V., Sokolova I.V., German N.V. *Voda Magazine*, 2013, no 4, pp. 44–46.
3. German N.V., Vladimtseva I.V. *Sb. nauch. tr. po mater. mezhdunar. nauch.-prakt. conf. «Sovremennye problemy I ikh resheniya v nauke, transporte, proizvodstve i obrazovanii 2010» (Coll. of science proc. «Modern problems and their decisions in science, transport, production and education 2010»)*, Odessa, 20–27 dec.2010, Vol. 33. pp. 10–12.
4. German N.V., Vladimtseva I.V., Sokolova I.V., Orlova S.N. *Estestvennye I tekhnicheskie nauki*, 2014, no. 4, pp. 32.
5. Kolotova O.V., Vladimtseva I.V., German N.V., Sokolova I.V. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, 2013, Vol. 16, issue 23, pp. 132–135.
6. Kolotova O.V., Vladimtseva I.V., A.S. Redko, M.P. Chernobrovkina. *Izvestiya TulGU. Estestvennye nauki. Seriya Nauki o Zemle (Proceedings of the TulSU. Natural Sciences. Earth Sciences), Issue 2. Tula, 2008, pp. 234–238.*

Рецензенты:

Масленников А.А., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией «Экологическая токсикология», ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии», г. Волгоград;

Желтобрюхов В.Ф., д.т.н., профессор, президент Волгоградской региональной общественной научной организации «Экологическая академия», г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 28.01.2015