

Подбор температурного режима культивирования бактериальных деструкторов органических загрязнений сточных вод

И.В. Владимцева, д.б.н., профессор, О.В. Колотова, к.т.н., И.В. Соколова, к.б.н., С.П. Никонорова, магистрант, А.А. Тихонова, инженер, ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ; Е.Ю. Исайкина, к.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

В настоящее время одной из актуальных проблем экологии является быстрая и эффективная очистка бытовых и промышленных сточных вод от органических загрязнителей, наносящих значительный вред окружающей среде и здоровью человека. Наиболее рациональным методом очистки считается биологический, в котором микроорганизмы используют органические вещества в качестве источников питания и энергии. В последние годы при биоочистке всё чаще применяют биопрепараты, содержащие бактерии с повышенной ростовой и ферментативной активностью, что позволяет значительно ускорить процесс биodeградации загрязнений [1]. Для получения биопрепарата из сточной воды или объектов внешней среды выделяют микробные штаммы-деструкторы и культивируют в лабораторных условиях, увеличивая

их способность к биodeградации. Одним из наиболее значимых факторов при культивировании микроорганизмов является температурный режим, колеблющийся в широких пределах. Температура инкубации значительно влияет на скорость всех биохимических реакций, природу метаболизма, потребность в питательных веществах, состав биомассы, путь превращения источников питания и энергии, потребность в факторах роста и другие процессы. В связи с этим необходимым этапом при лабораторном культивировании микроорганизмов является подбор оптимальной температуры их выращивания.

Цель исследования – определение оптимальной температуры культивирования бактериальных штаммов – деструкторов органических загрязнений сточных вод.

Материал и методы исследования. Температурный режим лабораторного культивирования подбирали для пяти бактериальных штаммов – деструкторов органических загрязнений: ВГТУ 02, ВГТУ 03, ВГТУ 06, ВГТУ 13 и ВГТУ 23, выделенных из

различных источников внешней среды и сточной воды промышленных предприятий.

Липидоокисляющие штаммы ВГТУ 02 и ВГТУ 03 были выделены из донных отложений Северного Каспия на селективной среде, содержащей оливковое масло в качестве источника углерода [2]. Штамм ВГТУ 02 представляет собой короткие, одиночные и двойные, подвижные, грамтрицательные палочки, культура ВГТУ 03 – мелкие, короткие грамположительные палочки, одиночные и собранные в цепочки. Обе культуры не образуют эндоспоры. Для этих штаммов была установлена возможность роста на средах, содержащих в качестве единственного источника углерода твины – 20, 40, 60, 80, оливковое масло, говяжий и свиной жиры.

Липидоокисляющий бактериальный штамм ВГТУ 06 был выделен из смыва с промышленной мясорубки Волгоградского мясокомбината на селективной среде, содержащей говяжий жир [3]. Микроорганизмы являются грамположительными, подвижными, спорообразующими и капсулообразующими палочками, относящимися по культуральным, морфологическим и биохимическим свойствам к виду *Bacillus subtilis* [4].

Бактериальный штамм ВГТУ 13, использующий фенол в качестве источника углерода, был выделен из морской акватории Северного Каспия на

селективной среде Егоровой [5]. Культура состоит из подвижных, ветвящихся, грамположительных палочек. В результате исследования основных свойств данные бактерии были отнесены к роду *Rhodococcus* [6].

Микроорганизмы штамма ВГТУ 23 были выделены из надосадочной жидкости активного ила колонного аэротенка-биореактора кондитерского предприятия «КДВ-Воронеж». Клетки штамма имеют палочковидную форму, грамтрицательные, эндоспор не образуют [7].

С целью нахождения оптимального температурного режима для штаммов ВГТУ 02, ВГТУ 03, ВГТУ 13 и ВГТУ 23 в 5 мл жидкой питательной среды, содержащей 1% глюкозы; 1% пептона; 0,2% $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$; 0,3% NH_4NO_3 ; 0,05% MnSO_4 и 0,01% FeSO_4 , заседали 0,1 мл одного из микроорганизмов в концентрации 10^9 микробных клеток в 1 мл. Посевы инкубировали в течение 24 час. при различных температурах (5, 16, 22, 25, 30, 37, 40, 45°C). Для штамма ВГТУ 06 при исследовании температурного режима использовали среду следующего состава: 1% глюкозы; 1,5% пептона; 0,5% NaCl ; 0,1% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 0,01% MnSO_4 и 0,01% ZnSO_4 .

Анализ результатов экспериментов (определение концентрации биомассы) осуществляли оптическим методом, регистрируя оптическую плотность

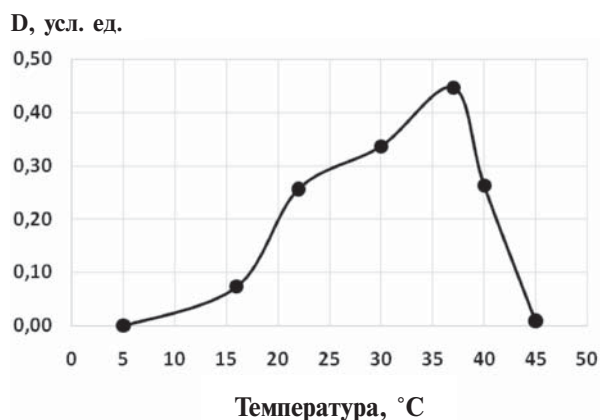


Рис. 1 – Температурная кривая культивирования штамма ВГТУ 02

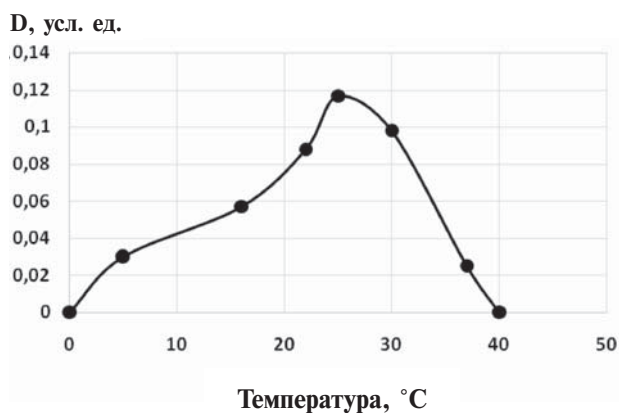


Рис. 2 – Температурная кривая выращивания штамма ВГТУ 03

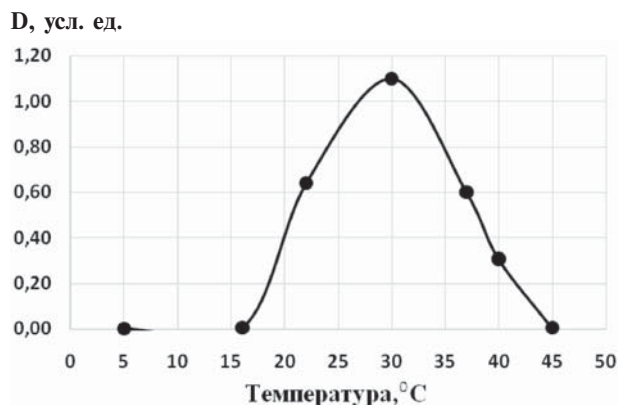


Рис. 3 – Температурная кривая культивирования штамма ВГТУ 06

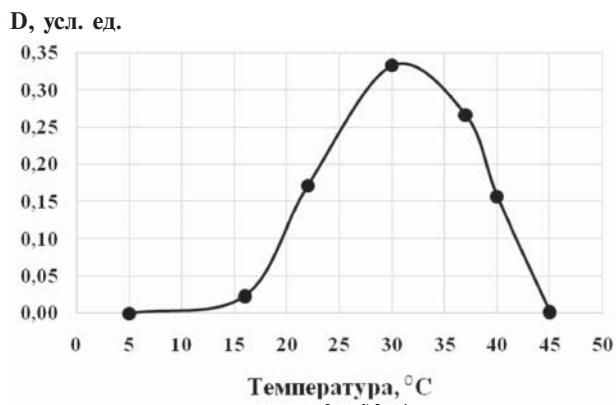


Рис. 4 – Температурная кривая выращивания штамма ВГТУ 13

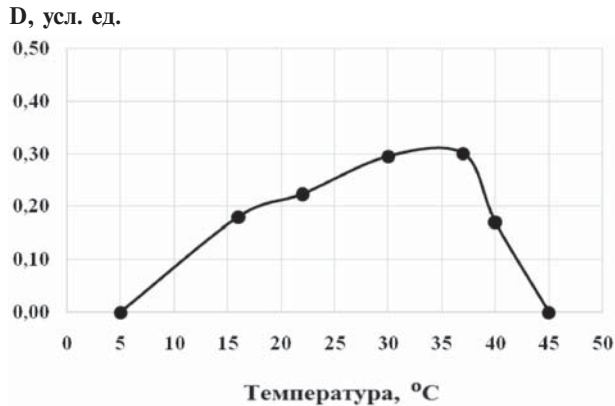


Рис. 5 – Температурная кривая культивирования штамма ВГТУ 23

бактериальных суспензий (D) на фотоэлектроколориметре КФК-2-УХЛ-4.2.

Результаты исследования. Результаты проведенной экспериментальной работы приведены на рисунках 1–5.

Результаты исследования позволяют сделать заключение об оптимальной температуре культивирования исследуемых штаммов. Так, для получения максимального прироста биомассы штамма ВГТУ 02 необходима температура инкубации 37°C, для культуры ВГТУ 03 температурный оптимум находится на уровне 25°C, для штаммов ВГТУ 06 и ВГТУ 13 – 30°C. Для бактериального штамма ВГТУ 23 оптимальным является диапазон температур 30–37°C. Полученные результаты могут быть использованы при конструировании биопрепаратов, перспективных для промышленного применения в системах биологической очистки сточных вод.

Выводы.

1. Определены оптимальные температурные условия лабораторного культивирования пяти бак-

териальных штаммов – деструкторов органических загрязнений сточных вод.

2. Все выделенные штаммы являются мезофильными микроорганизмами с максимальным уровнем накопления биомассы в интервале температур 25–37°C.

Литература

1. Кобызева Н.В. Биопрепарат-нефтедеструктор «Ленойл» / Н.В. Кобызева, О.Н. Дубинина, О.Н. Логинов, С.П. Четвериков, Т.Ф. Бойко, Н.Ю. Черняева, Р.Ф. Хуснаризанова, Н.Н. Силищев // Токсикологический вестник. 2008. № 3. С. 43–44.
2. Колотова О.В. Выделение и изучение свойств липидоокисляющих микроорганизмов с целью разработки биопрепарата для переработки отходов жировой природы / О.В. Колотова, И.В. Соколова, И.В. Владимцева, Т.В. Бельникова, В.С. Шевцова // Инновационные технологии в промышленности: образование, наука и производство: сб. матер. всерос. науч.-практич. конф. с междунар. участием (г. Стерлитамак, 16 декабря 2016 г.). Т. I. Уфа, 2016. С. 323–324.
3. Колотова О.В. Выделение, идентификация и культивирование бактериального штамма, обладающего липолитической активностью / О.В. Колотова, И.В. Соколова, И.В. Владимцева, С.Н. Орлова, А.И. Анненко // Естественные и технические науки. 2016. № 2. С. 11–16.
4. The research of growth capability intensification and lipolytic activity of fat splitting microbial cultures by influence of natural mineral components / O.V. Kolotova, I.V. Vladimtseva, S.N. Orlova, I.V. Sokolova // European Journal of Molecular Biotechnology. 2014. № 3 (5). С. 120–130.
5. Кочеткова Е.А. Использование микроорганизмов – деструкторов для биоремедиации от загрязнений фенолами / Е.А. Кочеткова, И.В. Соколова, Е.О. Шмелева, Е.А. Забубенина // Инновационные технологии и технические средства для АПК: матер. междунар. науч.-практич. конф. молодых учёных и специалистов (г. Воронеж, 15–17 ноября 2016 г.). Ч. II. Воронеж, 2016. С. 15–18.
6. Соколова И.В. Подбор оптимальных условий культивирования для штамма – деструктора фенола / И.В. Соколова, О.В. Колотова, Е.А. Кочеткова, Е.А. Забубенина, Е.О. Шмелева // Инновационные технологии в промышленности: образование, наука и производство: сб. матер. всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (г. Стерлитамак, 16 декабря 2016 г.). Т. I. Уфа, 2016. С. 275–277.
7. Тихонова А.А., Чайкина Д.А., Владимцева И.В. Исследование питательных потребностей бактериального штамма, осуществляющего очистку сточной воды кондитерского предприятия // Инновационные технологии в промышленности. образование, наука и производство: сб. матер. всерос. науч.-практич. конф. с междунар. участием. В 2-х т. Т. I. Уфа, 2016. С. 343–344.