

**РОЗРОБКА МЕТОДУ ІНОКУЛЯЦІЇ ЗАЛІЗО- ТА
МАРГАНЕЦЬРЕДУКУЮЧИХ ОРГАНІЗМІВ З ОЦІНКОЮ
ЕФЕКТИВНОСТІ ПОДАЛЬШОГО ВИДАЛЕННЯ ЦИХ
ЗАБРУДНИКІВ**

Кравченко О.В.

Державне підприємство «Науково-дослідний та конструкторсько-технологічний інститут міського господарства», м. Київ

Виявлено, що найбільш ефективним способом заселення завантаження фільтрів є змив колоній мікроорганізмів з твердого поживного середовища та інокуляція ним цеоліту.

Ключові слова: залізобактерії, марганецьокиснюючі бактерії, цеолітове завантаження, змив колоній.

Виявлено, что наиболее эффективным способом заселения загрузки фильтров является смыв колоний микроорганизмов из твердой питательной среды и инокуляция им цеолита.

Ключевые слова: железобактерии, марганецоксиляющие бактерии, цеолитовая загрузка, смыв колоний.

Have been investigated that the most effective way for inoculating filters loading is to wash the colonies of microorganisms from a solid culture medium and inoculation of them zeolite.

Keywords: iron bacteria, manganese-oxidizing bacteria, zeolite loading, wash colonies.

Вступ. Для розробки біотехнології видалення з води сполук заліза та марганцю під дією спеціальних штамів бактерій необхідно розробити метод підготовки завантаження фільтрів, зокрема: отримання посівного матеріалу та перенесення залізо- та марганець окислюючих мікроорганізмів на завантаження швидких фільтрів.

Це завдання ускладнюється тим, що більшість родів таких мікроорганізмів ще не вдалось культивувати у рідкому середовищі [1]. В той же час автор роботи [2] запропонував для інтенсифікації процесу очистки підземних вод із високим вмістом заліза використовувати біопоглиначі із закріпленою мікрофлорою, які по відношенню до солей заліза і марганцю є інертним завантаженням. Проте не виключена

можливість їх закріплення на неінертних носіях, зокрема на цеолітовому завантаженні. Це підтверджує актуальність запропонованої роботи.

У рамках роботи було досліджено три методи переносу чистих культур на завантаження фільтру. Перший полягає у напрацюванні мікробної біомаси у рідкому середовищі та подальшій обробці нею завантаження фільтру. Другий підхід базується на одержанні посівного матеріалу бактерій на твердому середовищі та механічному переносі на завантаження фільтру. Третій – культивування бактерій на твердому середовищі, приготування суспензії мікроорганізмів та подальша обробка завантаження фільтру рідким інокулятом.

Матеріали і методи. В експериментах були використані чисті культури залізо- та марганецьокиснюючих мікроорганізмів шести родів *Siderocapsa*, *Leptothrix*, *Sphaerotillus*, *Galionella*, *Metallogenium*, *Hyrhromicrobium*, виділені нами [3]. Вирощування та ідентифікацію культур залізо- та марганецьокиснюючих організмів здійснювали згідно методик, зазначених у [3]. Для перевірки здатності досліджуваних культур видаляти залізо застосовували аналогічні середовища без заліза. В якості завантаження фільтру застосовували цеоліт Сокирницького родовища фракцією 1-4 мм.

Інокулятом, що виріс на рідкому середовищі, обробляли цеоліт на колонці. Для заселення завантаження колонки колоніями, що вирости на твердому середовищі, застосовували механічний перенос – змішування посівного матеріалу з верхнім шаром цеоліту. Також готували суспензію мікроорганізмів, що вирости на твердому середовищі та обробляли таким інокулятом цеоліт. Обробка посівним матеріалом, отриманим трьома різними способами, відбувалась у непроточному режимі.

Після заселення цеоліту мікроорганізмами через колонки пропускали модельні розчини, приготовані на водопровідній воді, наступного складу: розчин № 1 - 2 мг/дм³Fe(II) + 0,2 мг/дм³Mn(II); розчин № 2 - 5 мг/дм³Fe(II) + 0,2 мг/дм³Mn(II); розчин №3 - 12 мг/дм³Fe(II) + 0,5 мг/дм³Mn(II).

Під час пропускання модельних розчинів вимірювали кількість біомаси в 1 г завантаження, загальне мікробне число та залишкові концентрації заліза та марганцю: Fe (II) – с 2,2-дипіридиллом; загальний вміст марганцю – фотоколориметрично згідно ГОСТ 4974-72 (метод В).

Контролем для оцінки якості заселення завантаження мікроорганізмами служили колонки з цеолітом без обробки посівним

матеріалом, через які пропускали модельні розчини заліза та марганцю.

Результати та їх обговорення. При вирощуванні бактерій у рідкому середовищі спостерігався незначний ріст р. *Sphaerotillus* - колонії були невеликого діаметру. На завантаженні фільтру закріплення цих мікроорганізмів практично не відбулось: у контролі та розчинах після проходження через такі колонки ефективність видалення заліза та марганцю була однаковою.

На твердому середовищі трикультури- р. *Siderocapsa*, р. *Galionella*, р. *Hyphomicrobium* -практично не давали росту: колонії були мілкими. Хоча ці ж культури давали ріст на середовищі без заліза, що може свідчити про здатність цих бактерій видаляти залізо в асоціації з іншими мікроорганізмами.

Інші штами – р. *Leptothrix*, р. *Sphaerotillus*, р. *Metallogenium*, р. *Siderocapsa*, р. *Galionella*, р. *Hyphomicrobium* - на твердому середовищі давали помітний ріст. Характерною особливістю було те, що колонії родів *Leptothrix*, *Sphaerotillus*, *Metallogenium* були більшими за інші і ріст їх проявився швидше (на 5-6 добу культивування). Тому саме ці культури використовували у подальших дослідженнях.

При механічному переносі на цеоліт закріплення бактерій не відбулось. При переносі клітин через суспензію вдалось перенести мікроорганізми, що були попередньо визначені як найактивніші. Було проведено їх диференціацію за морфологічними ознаками та забарвлення гескаціаноферратом (II) калію відповідно до [3].

Залежності, що ілюструють зміну вмісту заліза та марганцю після пропускання модельного розчину № 1 з концентраціями 2 мг/дм³Fe(II) та 0,2 мг/дм³Mn(II) через колонки із завантаженням, заселеним культурами *Leptothrix*, *Sphaerotillus*, *Metallogenium* наведено на рис. 1.

Графіки на рис. 1, дозволяють зробити висновок, що при низьких концентраціях заліза та марганцю видалення цих елементів біологічним шляхом не відбувається. Зміна їх концентрації впродовж усього періоду фільтрування (8-48 год) була незначною: ефективність видалення заліза на завантаженнях, заселених мікроорганізмами, лежала у межах 90-92 %, для марганцю – 80-90 %. Тому можна припустити, що при низьких концентраціях елементів, фізико-хімічні процеси домінують над біологічними.

Залежності, що ілюструють зміну вмісту заліза та марганцю після пропускання модельного розчину № 2 з підвищеним вмістом заліза (2,5 мг/дм³Fe(II) та 0,2 мг/дм³Mn(II)) через колонки із завантаженням, заселеним культурами *Leptothrix*, *Sphaerotillus*, *Metallogenium*, наведено на рис. 2.

На кривих, наведених на рис. 2, у перші 8 годин фільтрування для всіх трьох родів спостерігається виражена лаг-фаза їх розвитку, що

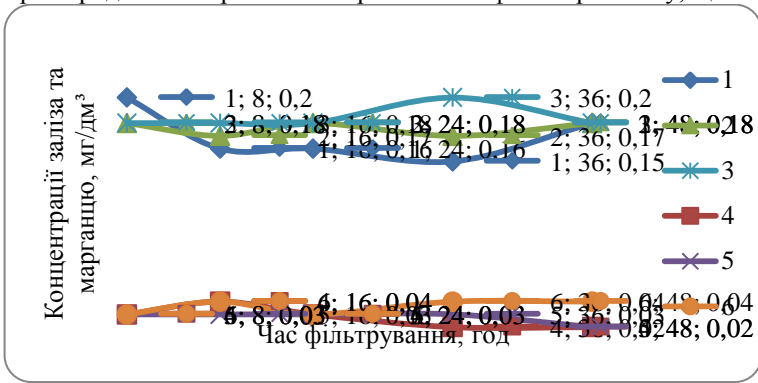


Рисунок 1. Зміна концентрації заліза та марганцю за участю різних видів мікроорганізмів: р. *Leptothrix* – Fe - 1, Mn – 4; р. *Sphaerotillus* – Fe - 2, Mn – 5; р. *Metallogenium* – Fe - 3, Mn – 6

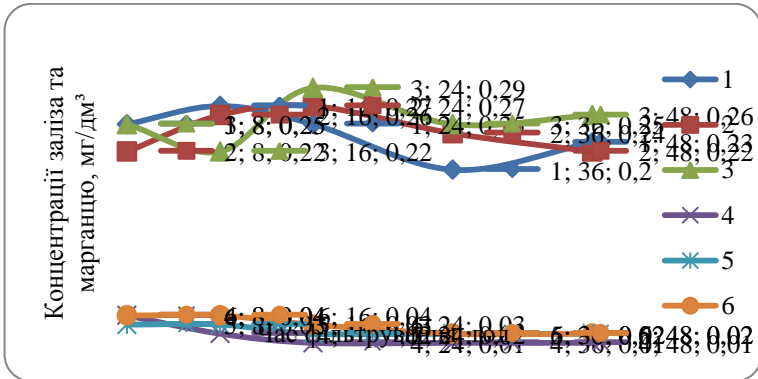


Рисунок 2. Зміна концентрації заліза та марганцю за участю різних видів мікроорганізмів: р. *Leptothrix* – Fe - 1, Mn – 4; р. *Sphaerotillus* – Fe - 2, Mn – 5; р. *Metallogenium* – Fe - 3, Mn – 6

свідчить про початок заселення завантаження мікроорганізмами та пристосування їх до умов середовища.

Порівняно із модельним розчином № 1 видалення заліза із модельного розчину № 2 з підвищеним вмістом заліза відбувається ефективніше (до 96 %). Тобто мікроорганізми здатні розвиватись та

ефективно вилучати залізо при певній концентрації, про що свідчить відсутність лаг-фази на рис. 1 та її наявність на рис. 2.

Помічено, що видалення марганцю проходило більш ефективно (85 % порівняно із 82 % для розчину № 1), незважаючи на однаковий його вміст (0,2 мг/дм³) в розчинах № 1 та № 2. Таку зміну можна пояснити підвищеним вмістом заліза у розчині № 2, що дає змогу розвиватись залізобактеріям, які здатні вилучати і марганець.

Залежності, що ілюструють зміну вмісту заліза та марганцю після пропускання модельного розчину № 2 з підвищеним вмістом заліза та марганцю (12 мг/дм³Fe(II) та 0,5 мг/дм³Mn(II)) через колонки із завантаженням, заселеним культурами *Leptothrix*, *Sphaerotillus*, *Metallogenium*, наведено на рис. 3.

Проаналізувавши графіки на рис. 3, робимо висновок, що при підвищених концентраціях заліза та марганцю значну роль у їх видаленні беруть мікроорганізми – протягом усього періоду фільтрування спостерігалась висока ефективність видалення сполук обох елементів (до 98% заліза, до 96% марганцю). Це свідчить про превалювання біологічних процесів над фізико-хімічними при обробці води із високим вмістом солей заліза та марганцю.

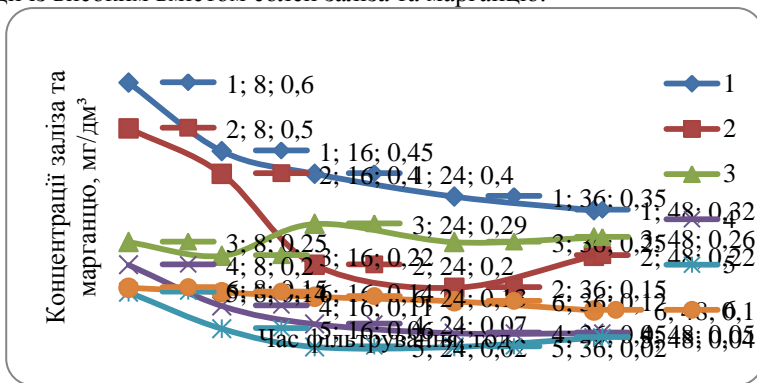


Рисунок 3. Зміна концентрації заліза та марганцю за участю різних видів мікроорганізмів: р. *Leptothrix* – Fe - 1, Mn – 4; р. *Sphaerotillus*– Fe - 2, Mn – 5; р. *Metallogenium*– Fe - 3, Mn – 6

Для виявлення того, яка культура із досліджених на попередньому етапі, є найефективнішою по відношенню до вилучення заліза та марганцю, було виміряне загальне мікробне число на завантаженні колонок та оцінено середню ефективність видалення елементів кожним родом окремо. Дані наведено у табл. 1.

Таблиця 1. Оцінка ефективності видалення заліза та марганцю мікроорганізмами

Рід	ЗМЧ, КУО/г	Ефективність видалення Fe (II), %	Ефективність видалення Mn(II), %
Розчин №1			
<i>Leptothrix</i>	300	91,5	86,0
<i>Sphaerotillus</i>	300	91,2	86,0
<i>Metallogenium</i>	250	90,8	82,0
Розчин №2			
<i>Leptothrix</i>	1200,0	95,2	91,0
<i>Sphaerotillus</i>	1100,0	95,2	88,0
<i>Metallogenium</i>	1000,0	94,9	85,0
Розчин №3			
<i>Leptothrix</i>	1600,0	96,5	80,8
<i>Sphaerotillus</i>	1800,0	97,6	88,8
<i>Metallogenium</i>	1200,0	97,9	74,4

Дані, наведені у табл. 1 свідчать, що при підвищених концентраціях заліза кращий ріст спостерігається у р. *Leptotrix* (ЗМЧ для розчину №2 - 1200 КУО/г; № 3 – 1600 КУО/г) та р. *Sphaerotillus* (ЗМЧ для розчину №2 - 1100 КУО/г; № 3 – 1800 КУО/г). Судячи з даних табл. 1, представники р. *Leptotrix* видаляють ефективніше марганець, ніж р. *Sphaerotillus* та р. *Metallogenium*, проте ефективність видалення заліза нижча.

На противагу йому представники р. *Sphaerotillus* інтенсивно видаляють як залізо, так і марганець при високих їх концентраціях: 97,6 % та 88,8 % відповідно при ЗМЧ у 1800 КУО/г. Отже, р. *Sphaerotillus* має найбільшу ефективність серед трьох родів.

Для модельного розчину № 1 хімічне окиснення переважало над біологічним – спостерігалось невисоке значення ЗМЧ (до 300 КУО/г) та практично однакова ефективність видалення заліза та марганцю.

Висновки. На основі отриманих експериментальних даних найбільш ефективним способом заселення завантаження фільтру є змив колоній мікроорганізмів з твердого поживного середовища та інокуляція ним цеоліту.

В експериментах з використанням модельних розчинів з різними концентраціями заліза та марганцю показано, що при низьких концентраціях цих елементів їх видалення відбувається переважно за рахунок фізико-хімічних процесів.

При обробці колонок розчинами з більш високою концентрацією заліза та марганцю відмічено переважання біологічного процесу над фізико-хімічним, про що свідчить наявність лаг-фази на початку пропускання модельних розчинів № 2 та № 3. Причому збільшення

концентрації заліза сприяє видаленню марганцю - можливо це результат того, що залізо використовується як обов'язковий субстрат бактеріями, що видаляють марганець.

При порівнянні ефективності штамів родів *Leptothrix*, *Sphaerotillus*, *Metallogenium* виявлено, що за даних умов р. *Leptothrix* видаляє ефективніше залізо та марганець при невисоких їх концентраціях в розчині, а р. *Sphaerotillus* – при високих.

1. Ю. Р. Захарова Метод культивирования микроорганизмов, окисляющих железо и марганец в донных осадках озера Байкал / Ю. Р. Захарова, В. В. Парфенова // Известия РАН. Серия биологическая. - 2007. - № 3. - с. 290 - 295.

2. Квартенко О.М. Використання закріпленої мікрофлори для очистки підземних вод з підвищеним вмістом заліза : автореф. дис. ... канд. техн. наук : 05.23.04 / Олександр Миколайович Квартенко. — Рівне, 1997. — 23 с.

3. Кравченко О.В. Розробка методики ідентифікації культур мікроорганізмів, які здатні окислювати сполуки заліза та марганцю у природних водах / О.В. Кравченко // Проблеми водопостачання, водовідведення та гідравліки. Науково-технічний збірник. – 2014. – 24. – С. 140 – 145.