

Муталиева Б.Ж., Сахова Г., Рысбаева Г.С., Есимова А.М.

*Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова, Шымкент*

## КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МЕТАНООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОГАЗА И БИОУДОБРЕНИЙ НА ОСНОВЕ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

### **Аннотация**

В последнее время непрерывное развитие различных биогазовых технологий привело к необходимости усовершенствования конструкций биореакторов для увеличения выхода метана из расширяющихся ассортиментов сырья. Очевидным способом повышения производительности реакторов и снижения ВГУ является увеличение плотности, т.е. иммобилизация микроорганизмов.

**Ключевые слова:** эффект, биореакторов, ферментации, микрофлоры, интенсификация, биоудобрений.

### **Введение**

Проведение исследований по оптимизации получения биогаза путем анаэробного сбраживания отходов производства поможет решить проблемы управления бытовыми и промышленными отходами в свете приоритетных направлений в Концепции экологической безопасности Республики Казахстан [1, 2]. Это позволит обеспечить экологическую безопасность и устойчивое развитие страны, и то, что по привычке называется отходами, при разумном использовании способно дать значительную прибыль и освободить занимаемые свалками земли. Приоритет утилизации отходов над их ликвидацией очевиден, и исследования в области повторного использования отходов перспективны и актуальны.

### **Материалы и методы**

Известно, что применение анаэробного метода при переработке отходов животноводства имеет существенный эффект по сравнению со многими другими методами, что выражается в значительном снижении загрязнения почвы, воды, воздуха химическими веществами и патогенной микрофлорой. Эффективность анаэробного процесса в существенной мере зависит от правильной подготовки сырья к переработке и от конструкции биореактора.

Большое значение для повышения эффективности работы биореакторов имеет использование методов иммобилизации микроорганизмов с тем, чтобы повысить выход биогаза при анаэробной переработке отходов. Основная задача таких биореакторов - интенсификация теплообмена и гомогенизация ферментационной среды, что способствует ускорению метаногенеза за счет закрепления метаногенной микрофлоры в аппарате. Поэтому в данной работе проводились исследования по изучению условий культивирования метанообразующих бактерий, а также различных полимерных композиций для обоснования их применения в качестве носителей для иммобилизации микроорганизмов, кроме того возможность использования отходов производства биогаза в виде биоудобрений.

Метанообразующие бактерии — строгие анаэробы и имеют температурный оптимум для роста в области 30–40°, поэтому в данной научной работе используется температурный предел 30-50<sup>0</sup>С, оптимальный рН в области 6,5–7,5 [3, 4].

В настоящей работе для получения микробной суспензии использовали около 10 г предварительно измельченного образца. Навеску образца переносили в колбу емкостью

250 мл с 90 мл стерильной водопроводной воды, взбалтывали в течение 10 минут на механической качалке и давали отстояться грубым частицам. Затем методом разведения готовили суспензии, содержащие разные количества отходов. Одновременно из пробы отбирали 20 г отходов для определения влажности, и проводили пересчет на 1 г абсолютно сухих отходов. Из полученных разведений проводили посевы микроорганизмов на плотные питательные селективные среды [3].

Питательная среда для метанообразующих бактерий включала основные растворы солей калия гидрофосфата, хлоридов калия, магния, кальция, натрия ацетата, дрожжи, витамины В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, С, РР, агар-агар. На питательную среду было помещено небольшое количество разведённого дистиллированной водой навоза, в составе которого находились метаногенные бактерии. Колбу с питательной средой плотно закрыть пробкой, создав анаэробные условия и поместить в термостат при температуре 30°C на 2 недели. По истечению срока на питательной среде можно обнаружить колонии бактерий, природу которых проверяют окраской по Грамму [5].

Так как состав перерабатываемых отходов определяет течение метанового брожения, в настоящей работе анализу были подвергнуты различные смеси отходов, такие как птичий помет, коровий навоз, свиной навоз, а также соломы и травы, с целью выбора оптимальных вариантов прохождения процесса сбраживания, при этом были проведены расчет выхода биогаза с предварительным определением влажности сырья [4].

Вычислили влажность сырья по формуле:

$$X = \frac{m_2 \cdot 100}{m_1} \%,$$

где  $m_1$  – масса свежего сырья, г

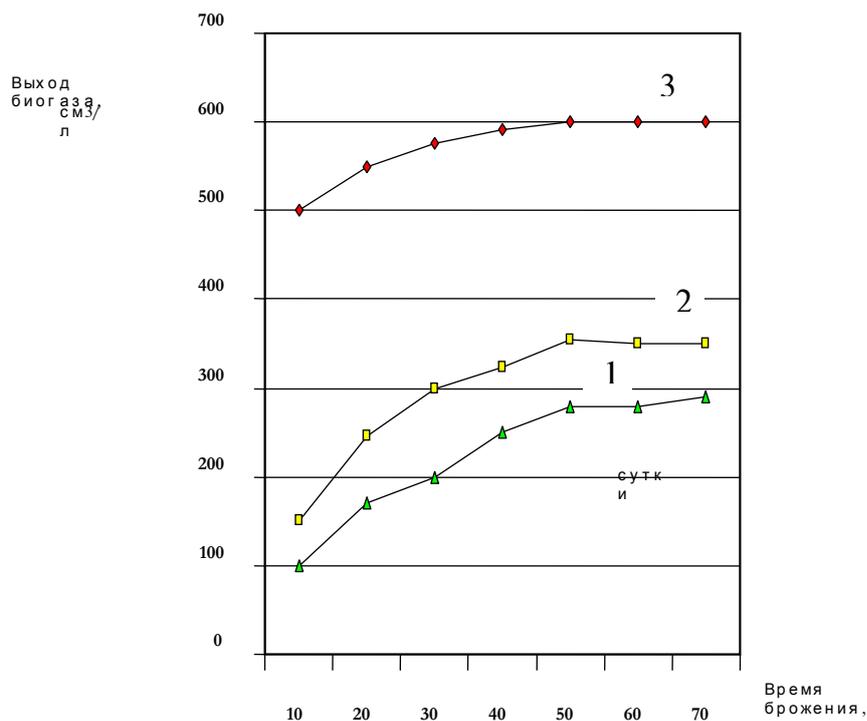
$m_2$  – масса высушенного сырья, г

X – влажность.

Откуда

$$X = \frac{40 \cdot 100}{50} \% = 80\%$$

Таким образом, по результатам исследований наибольший выход биогаза наблюдался при использовании птичьего помета с влажностью 80% в качестве субстрата для экспериментов.



1 – трава, 2 – солома, 3 – птичий помет

Рисунок 1. - Выход биогаза в расчете на 1 г сухого вещества сельскохозяйственного материала при температуре брожения  $T=30^{\circ}\text{C}$ .

С целью выделения из окружающей природной среды биоценоза метанобразующих бактерий были взяты навоз в количестве 50 г, которые были загружены в конические колбы емкостью 200 мл. Контролировали объем выделившегося газа. Газ - метан свидетельствовал об интенсивности процесса метанового брожения и, следовательно, о накоплении смешанной культуры метанобразующих бактерий. Полученные данные приведены на рисунках 2 и 3, из них видно, что выход газа увеличивается при использовании иммобилизованной культуры метанобразующих бактерий.

Таким образом, был проконтролирован объем выделившегося газа, которые свидетельствуют об интенсификации процесса метанового брожения и соответственно, о накоплении смешанной культуры метанобразующих бактерий. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика процесса метанового брожения

Объект исследования	Объем газа, мл				
	Время, сутки				
	5	10	15	20	25
Смесь № 1 (помет, без иммобилизации и добавок)	5	20	45	70	100
Смесь № 2 (помет, со сточными водами, без иммобилизации)	8	45	60	90	130
Смесь № 3 (иммобилизованной на полимерном носителе $n=0,25$ , где концентрация полимера $0,025$ основомоль/л)	50	120	215	335	500

На рисунке 2 показана кинетика микробиологических процессов при созревании метанового биоценоза, происходящих в реакционной смеси без иммобилизации. Из полученных данных видно, что газ – метан, свидетельствующий о начале третьей, метанобразующей фазы начинает интенсивно образовываться на 14 – 16 сутки от начала процесса, а на 22 – 24 сутки наступает торможение процесса.

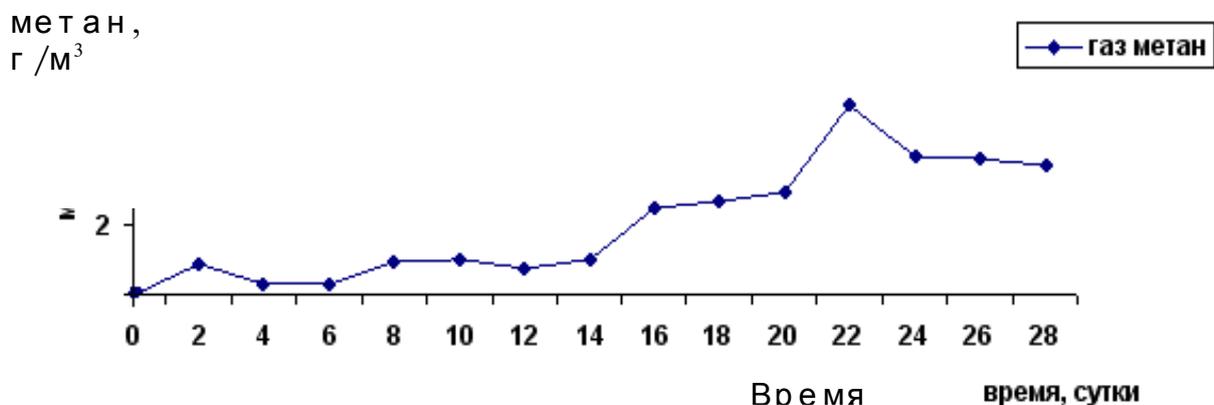


Рисунок 2. - Кинетика образования метана при протекании процесса метанового брожения

В процессе анаэробного сбраживания снижается количество метанобразующих бактерий. Как показано в работе [6], причиной, тормозящей процесс, является образование кислых продуктов бактериального гидролиза. Экспериментальные данные по измерению рН среды подтверждают это предположение. В ходе созревания метанового биоценоза рН изменилось от 7,5 в начале процесса до 5,7 в конце (Рисунок 3). Таким образом, рН среды в ферментере является чувствительным параметром, используемым для определения стабильности брожения.

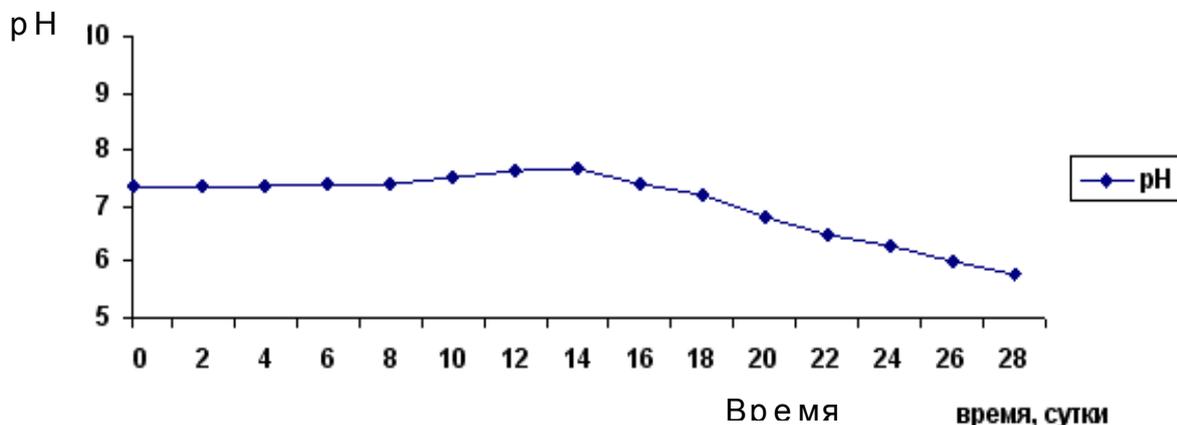


Рисунок 3. Кинетика изменения рН при протекании процесса метанового брожения

Адсорбционные методы иммобилизации относятся к числу наиболее простых и "естественных". В природе почти всегда микроорганизмы и их ассоциаты существуют не в изолированной (свободной) форме, а в адсорбированном состоянии. Примером этому являются микробные популяции почвы, кишечника, рубца, некоторые азотфиксирующие микроорганизмы растений и т.д. В случае адсорбционной иммобилизации используется естественная способность многих микроорганизмов закрепляться на разнообразных

твердых или гелеобразных носителях и продолжать свою жизнедеятельность в таком обездвиженном состоянии. [7].

Разнообразие свойств поверхности клеток и адсорбентов обуславливает различные механизмы адсорбционного взаимодействия и различные виды сил адгезии. Адгезия клеток на адсорбенте определяется следующими причинами:

1) Образование химических связей между поверхностями клетки и адсорбента (хемосорбция);

2) Ион - ионные взаимодействия, образование ионных пар и триплетов, например,  $\text{NH}_3^+ \dots \sim \text{OOC}-$  и  $-\text{COO}^- \sim \dots \text{Ca}^{2+} \dots \sim \text{OOC}-$ ;

3) Электростатические (неионные) взаимодействия заряженных поверхностей клеток и адсорбента;

4) Силы Ван-дер-Ваальса (взаимодействие диполь—диполь, диполь—наведенный диполь, ион — диполь);

5) Влияние электролитов, гидратационных эффектов, капиллярных свойств;

6) Флокуляция и коагуляция;

7) Гидрофобное взаимодействие;

При адсорбционной иммобилизации клеток, которая обусловлена электростатическими силами, одновременно реализуется несколько типов адгезионного взаимодействия, поэтому трудно выделить роль каждого из них по отдельности. Наибольшее влияние на связывание микроорганизма с носителем оказывают ковалентные и ионные взаимодействия [7].

#### **Выводы**

Полимерные композиции на основе производных полиакрилонитрила вызывают интерес тем, что поверхность полимера является заряженной, что предполагает взаимодействие между поверхностью полимерного носителя и поверхностью микроорганизмов

#### **Литература**

1. Новый Казахстан в новом мире//Казахстанская Правда от 2 марта 2007 г. – С. 2-3
2. Концепция экологической безопасности республики Казахстан на 2004-2005 годы // Казахстанская правда от 10.12.2003. – С. 7-8.
3. Michael J. Franklin, William J. Wiebe, and William B. Whitman. 1988. Populations of Methanogenic Bacteria in Georgia Salt Marsh. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:1151-1157.
4. Deublein D. Steinhauser A. *Biogas from Waste and Renewable Resources*. - Wiley, 2008, isbn: 3527318410, 472 p.
5. Bergey David H. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. — 9th ed.. — Lippincott Williams & Wilkins, 1994.
6. Панцхава Е.С., Давиденко Е.В. Метангенерация твердых органических отходов городов // *Биотехнология*, 1990, № 4. - С. 49 -52.
7. Alatrisme-Mondragon, F., Samar, P., Cox, H.H.J., Ahring, B.K., Iranpour, R., 2006. Anaerobic codigestion of municipal, farm, and industrial organic wastes: A survey of recent literature. *Water Environment Research*, 78, 607-636.

Муталиева Б.Ж., Сахова Г., Рысбаева Г.С., Есимова А.М.

## МЕТАНБАҚЫЛАУ БАКТЕРИЯЛАРЫНАН БАУЛЫ БИОГАЗДЫ ЖӘНЕ АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ ҚАЛДЫҚТАРЫ НЕГІЗДЕГІ БИОТЫҢАЙТҚЫШТАР АЛУ

Ғылыми-зерттеу жұмыстары энерготиімділік пен энергожинақтауды қамтамасыз ету мақсатындағы дәстүрлі емес энергия көздерін қолдануға негізделген технологияларды жасап шығаруға бағытталған. Бұл мақсатында метан ашыту процесінің оптимизациялау мүмкінділігі полимерлік композициясында микроорганизм иммобилизация арқылы зерттелінген. Қолданылатын полимерлік композициялар арзан және қолжетімді, сонымен қатар отандық өндірістік талшық қалдықтарынан алынуы мүмкін.

Mutalieva B.Zh., Sakhova G., Rysbayeva G.S., Esimova A.M.

## CULTIVATION OF BACTERIES WHICH PRODUCING METHAN FOR IMPROVING YIELD, BIOGAS AND BIOFERTILIZERS PRODUCTION BASED ON AGRICULTURE WASTES

Scientific-research work was directed on development of technologies, basing on use of untraditional energy sources to provide energy efficiency and saving. For this purpose, the possibility of methane fermentation processes optimization by immobilization the microorganisms on the polymeric carriers. Usable polymeric compositions are cheap and available, because they can be obtained on the basis of domestic fibre production wastes.

**ӘОЖ 675.031**

**Нұрғалиев Б.Е., Жұмагелдиев А.А., Усенов Ж.Т., Искакова А.Ғ.**

*Қазақ ұлттық аграрлық университеті,  
Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті*

## АУЫР МЕТАЛЛІ ТҰЗДАРЫМЕН ЛАСТАНҒАН ҚОЙ ЕТІНДЕГІ МАКРОЭЛЕМЕНТТЕР МӨЛШЕРІНІҢ ӨЗГЕРУІ

### **Андатпа**

Мақалада ластанған аймақтан алынған қой етіндегі макроэлементтер мөлшеріне тексеру сау қой етіндегі көрсеткіштерімен салыстырылып жүргізілген. Нәтижесінде ластанған аймақтан алынған қой етіндегі макроэлементтер мөлшері таза аймақтан алынған қой етіндегі мөлшерімен салыстырғанда айтарлықтай өзгеріске ұшырайтындығы анықталынған. Яғни ауыр металл тұздарының әсерінен ағзадағы зат алмасу үрдісінің дұрыс жүрмейтіндігі, соның әсерінен макроэлементтер жетіспеушілігінің туындайтындығы айқындалған.

***Кілт сөздер:** қой еті, макроэлементтер.*

**Кіріспе** Қазіргі кезде адамдар тағамдық мақсатқа пайдаланылатын жануар өнімдерін өндіру кезінде экологиялық қауіпсіз өнімдерді шығару өзекті мәселеге айналды, өйткені экожүйеге адамның үзіліссіз техногендік әсері және табиғи кешенде химиялық элементтердің айналымының ұлғаюы нәтижесінде ауыр металл тұздарының қоршаған ортаға, сонымен қатар тізбек арқылы адам ағзасына түсуі өсіп отыр.