УДК 675.887

**ВЫДЕЛЕНИЕ СПАВ-ТОЛЕРАНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
ИЗ СТОЧНЫХ ВОД ПОСЛЕ ПРОЦЕССА ЭМУЛЬСИОННОГО
ОБЕЗЖИРИВАНИЯ ШУБНОЙ ОВЧИНЫ**

Габеева Елена Игоревна

студент

Научный руководитель: **Дмитрий Валерьевич Шалбуев**

док.техн.наук, проф.

ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный
университет управления и технологий»

Аннотация: В статье дана оценка физико-химических свойств сточных вод после эмульсионного обезжиривания. Выделены СПАВ-толерантные микроорганизмы, способные развиваться при концентрации СПАВ 1,5 г/дм³, а также проведена их морфолого-культуральная оценка.

Ключевые слова: микроорганизмы, обезжиривание, СПАВ, экспонирование, биodeградация.

**SURFACTANT-TOLERANT MICROORGANISMS ISOLATION FROM
WASTE WATER AFTER SHEEPSKIN DEGREASING**

Gabeeva Elena Igorevna

Scientific adviser: **Dmitriy Valerievich Shalbuev**

Abstract: The article provides an assessment of the physical and chemical properties of wastewater after emulsion degreasing. Surfactant-tolerant microorganisms capable of developing at a surfactant concentration of 1.5 g/dm³ were identified. Their morphological and cultural assessment was carried out.

Key words: microorganisms, degreasing, surfactant, exposure, biodegradation.

Одной из важных проблем мехового производства является снижение загрязнения сточных вод. Поступая в нативные водные объекты они изменяют кислородный режим вод, вызывая гибель гидробионтов. В настоящее время

наиболее перспективным является использование биотехнологических методов, основанных на применении микроорганизмов с заданными свойствами, что позволяет уменьшить уровень техногенного воздействия на окружающую среду. Высокая степень загрязнения сточных вод после процесса обезжиривания овчины объясняется высокой начальной концентрацией СПАВ - 4 г/дм³, а также использованием формальдегида, являющимся токсичным как для человека, так и для гидробионтов.

Сброс сточных вод, образующихся в результате переработки овчинно-шубного сырья, в нативные водные объекты, и прежде всего в озеро Байкал, представляет собой серьезную проблему на современном этапе развития меховых предприятий, расположенных на Байкальской природной территории.

Ранее [1] было показано, что сточные воды, образующиеся после эмульсионного обезжиривания шубной овчины, по уровню токсического загрязнения (УТЗ) относятся к гипертоксичным, что подтверждалось гибелью тест-объектов через 3 ч. после начала экспонирования (табл. 1).

Таблица 1

Оценка УТЗ вод после процессов переработки мехового сырья

Тип воды	Объем воды	Выживаемость <i>Daphnia magna</i> Straus							
		1 ч	2 ч	3 ч	24 ч	48 ч	72 ч	96 ч	УТЗ
		Шт	Шт	Шт	Шт	Шт	Шт	Шт	
После отмоки	1,0	5	4	2	0	0	0	0	П-Т
	0,5	5	4	4	0	0	0	0	П-Т
	0,1	5	5	4	0	0	0	0	П-Т
После обезжиривания	1,0	2	1,3	0	0	0	0	0	Г-Т
	0,5	3	2	0	0	0	0	0	Г-Т
	0,1	4	2	1	0	0	0	0	П-Т
После пикелевания	1,0	5	5	5	1	0	0	0	П-Т
	0,5	5	5	5	2	0	0	0	П-Т
	0,1	5	5	5	4	4	4	3	β-М-Т
После дубления	1,0	5	3	2	1	0	0	0	П-Т
	0,5	5	5	4	4	1	1	0	П-Т
	0,1	5	5	5	4	2	1	0	П-Т
Контроль	0	5	5	5	5	5	5	5	О-Т

Процесс эмульсионного обезжиривания овчины проводится для удаления жировых веществ природного происхождения, так как они не способны смазывать коллагеновые волокна и, следовательно, не могут придать им мягкость и эластичность. Кроме того, природный жир утяжеляет кожную ткань, придает ей грубость, а при хранении вызывает ее окисление (перегорание).

Основным процессом, основанным на использовании СПАВ, является эмульсионное обезжиривание. Сущность моющего действия СПАВ представляет собой сложный комплекс свойств, включающих в себя целый ряд коллоидно-химических процессов и поверхностных явлений, таких как смачивание, пептизация, эмульгирование и стабилизация частиц загрязнений, а также пенообразования.

Однако, попадая в водоемы, СПАВ нарушают санитарный режим: истощается запас растворенного в воде кислорода (расходуется на окисление СПАВ) и повышается концентрация нефтепродуктов за счет эмульгирования последних в поверхностных пленках СПАВ. Водные среды, в которых растворены СПАВ, могут нарушать различные аспекты жизнедеятельности организмов. В частности, СПАВ способны нарушать процессы фотосинтеза, первичную продукцию и приводить к деструкции фитопланктона [1].

В связи с этим целью работы являлась изучение химических свойств сточных вод после эмульсионного обезжиривания и выделение СПАВ-толерантных микроорганизмов.

Объектом исследования являлись сточная вода после эмульсионного обезжиривания овчины и выделенные из нее микроорганизмы. В качестве синтетических поверхностно-активных веществ (СПАВ) использовали неионогенный ПАВ (НПАВ) – «Эффект М» и анионноактивный ПАВ (АПАВ) – «Белочка». Для исследования были использованы стандартные физико-химические и микробиологические методы [2, с. 77].

Отбор сточных вод проводили после процесса эмульсионного обезжиривания шубной овчины, выполненного согласно типовой методики, действующей на ООО «МИП «ЭКОМ», г. Улан-Удэ.

Предварительно провели физико-химическую оценку сточной воды по следующим показателям: концентрация растворенного кислорода, химическое потребление кислорода (ХПК), биологическое потребление кислорода (БПК), активная реакция среды (рН), запах, цветность, взвешенные вещества.

Вследствие большого разнообразия контаминантов, поступающих в рабочие растворы из обрабатываемых шкур, загрязненность вод

целесообразно характеризовать по обобщающим показателям ХПК и БПК₅. Для интерпретации результатов анализа отработанных растворов принято использовать отношение БПК₅/ХПК. Это соотношение варьируется от 0 до 1 и может принимать промежуточные значения. Выбор интенсивной или экстенсивной технологии очистки сточных вод зависит от соотношения органических веществ, способных к биodeградации, и их смеси с неорганическими токсичными или нетоксичными субстанциями. Соотношение БПК₅/ХПК позволяет выразить способность к биodeградации (т.е. подвергаются ли сточные воды биологической очистке:

1) Если $\text{БПК}_5/\text{ХПК} \leq 0,3$, то соединения (или стоки) очень трудно поддаются биodeградации и в данном случае следует прибегать к вспомогательным средствам;

2) Если $\text{БПК}_5/\text{ХПК}$ составляет 0,3-0,6, то соединения (или стоки) потенциально биodeградебельны в течение более или менее продолжительного отрезка времени;

3) Если $\text{БПК}_5/\text{ХПК} > 0,6$ – теоретически нет препятствий для биodeградации соединений или стоков [3].

Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Физико-химические свойства сточных вод после обезжиривания

ХПК, мг/дм ³	БПК ₅ , мг/дм ³	Концентрация растворенного кислорода, мг/дм ³	рН	Запах	Цветность, град	Взвешенные вещества, мг/дм ³
1360,0	81,97	1,2	8,7	Гнилостный – 4	67,5	10,7

Анализируя данные, представленные в таблице 2, можно отметить, что стоки, образующиеся после процесса эмульсионного обезжиривания, можно отнести к трудно биodeградебельным, т.к. соотношение БПК₅ / ХПК составило 0,06, что меньше 0,3. Сточные воды характеризовались щелочным значением рН, что объясняется применением в процессе обезжиривания карбоната натрия, высоким значением цветности и низким содержанием растворенного кислорода и взвешенных веществ. Это связано с образованием в процессе обезжиривания устойчивой эмульсии, включающей в себя СПАВ, жировые и взвешенные вещества.

Для выделения СПАВ-толерантных микроорганизмов сточную воду после эмульсионного обезжиривания экспонировали в термостате при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 7 суток до образования на поверхности раствора пленки. Предварительно были приготовлены среды на основе мясо-пептонного бульона (МПБ), которые разлили в количестве 50 см^3 в колбы Эрленмейера объемом 150 см^3 , куда были внесены СПАВ различной химической природы.

Для каждого варианта исследования в МПБ вносили СПАВ с разной концентрацией: 1 – контрольный раствор (0 г/дм^3); 2, 3, 4 - неионогенный ПАВ (НПАВ) – «Эффект М»; 5, 6, 7 - анионоактивный ПАВ (АПАВ) – «Белочка», а также сточную воду после экспонирования в объеме 1 см^3 . Концентрации СПАВ в пробах составляли 0,1; 0,25 и $0,5 \text{ г/дм}^3$ соответственно. Среда экспонировали в течение 120 ч. в термостате при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$. В течение 5 дней проводили визуальную оценку изменения органолептических свойств сред: цвет, мутность, наличие осадка, пленки на поверхности среды, наличие пузырьков газа.

Через 24 ч. экспонирования наблюдали значительное изменение цвета раствора, его помутнение и появление на поверхности раствора пузырьков газа. Через 48 ч. наблюдения в структуре раствора появился осадок, не растворяющийся при перемешивании. Дальнейшее наблюдение в течение 3 суток не выявило существенных изменений органолептических свойств раствора. По окончании экспонирования был проведен посев и определено количество микроорганизмов, которое составило $\text{КОЕ} = 3,2 \times 10^7 \text{ кл/см}^3$. Были получены единичные колонии (рис. 1) микроорганизмов и проведено их описание, представленное в таблице 3.

Таблица 3

Морфолого-культуральное описание колоний

<p>Рис.1. Колонии микроорганизмов</p>	Показатель	Описание
	Форма	Неправильная с четко выраженными краями
	Величина	Крупные – 4-5 мм; мелкие – 1-2мм; карликовые до 1 мм.
	Прозрачность	Непрозрачные
	Цвет	Бесцветные
	Поверхность	Гладкая, матовая
	Рельеф	Выпуклый
	Консистенция	Вязкая

Для второго этапа исследования, концентрация СПАВ была увеличена в МПБ и составила 0,75, 1,0 и 1,5 г/дм³, а количество вносимого инокулянта в среду было уменьшено до 0,1 см³. Колбы экспонировали в термостате при температуре 37±1⁰С в течение 120 ч. Каждые сутки оценивали изменение органолептических свойств сред (рис. 2).

Рис. 2. Визуальное изменение свойств МПБ до и после экспонирования
а – до экспонирования (0 ч.); б – после экспонирования (120 ч.)

Изменение цвета раствора и его помутнение наблюдалось через 24 ч. экспонирования. Через 48 ч. на поверхности сред появились пузырьки воздуха, наблюдалось образование пристеночного кольца белого цвета.

По окончании экспонирования, из вариантов с максимальной концентрацией СПАВ (1,5 г/дм³), выделили отдельные культуры микроорганизмов и изучили их морфолого-культуральные свойства, т.е. окраска по Граму, Трухильо, Леффлеру. Выявлено, что выделенная культура являлась грамотрицательной палочкой с перетрихальным типом движения (рис.2).

Рис. 3. Микроскопия микроорганизмов
а – окраска по Граму; б – окраска по Трухильо; в – окраска по Леффлеру

Для выявления среды жизнедеятельности выведенных микроорганизмов было изучено изменение продолжительности экспонирования на величину рН в условиях применения СПАВ в присутствии и отсутствии микроорганизмов. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Влияние продолжительности экспонирования на величину pH среды

№ / №	Концентрация СПАВ, г/дм ³	pH (1 этап)	Концентрация СПАВ, г/дм ³	pH (2 этап)	Концентрация НПАВ, г/дм ³	pH водного р-ра НПАВ	Концентрация АПАВ, г/дм ³	pH водного р-ра СПАВ
Присутствие микроорганизмов					Отсутствие микроорганизмов			
0	0,0	8,5	0,0	9,1	0,0	8,5	0,0	9,1
1	0,1	10,4	0,75	10,5	0,1	9,1	0,1	-
2	0,25	10,2	1,0	10,5	0,25	9,1	0,25	9,1
3	0,5	10,2	1,5	10,5	0,5	9,1	0,5	9,1
4	0,1	10,3	0,75	10,6	0,75	9,1	0,75	9,1
5	0,25	10,3	1,0	10,7	1,0	9,1	1,01	9,1
6	0,5	10,3	1,5	10,6	1,5	9,1	1,5	9,1

По данным таблицы 3 можно отметить, что введение микроорганизмов в жидкую питательную среду, содержащую СПАВ различной химической природы и концентрации приводило к увеличению pH среды с 8,5 до 10,4 на первом этапе и с 9,1 до 10,7 на втором этапе исследования для всех рассмотренных вариантов. Вероятно, повышение значения pH связано с разрушением СПАВ и образованием продуктов жизнедеятельности, приводящих в значительному подщелачиванию среды. Дополнительно была проведена оценка величины концентрации СПАВ на изменение pH среды без микроорганизмов. Установлено, что при экспонировании питательных сред без введения в них микроорганизмов не приводит к изменениям значений pH.

Таким образом, в результате проведенного исследования была проведена оценка физико-химических свойств сточной воды после процесса эмульсионного обезжиривания овчины шубной. Показано, что сточные воды после процесса обезжиривания относятся к стокам очень трудно подающихся биодegradации, т.к. соотношение БПК₅/ХПК составило 0,06.

Выделены СПАВ-толерантные организмы, способные развиваться при концентрации СПАВ 1,5 г/дм³ на средах МПБ. Показано, что химическая природа СПАВ не оказывает существенного влияния на рост и развитие исследуемых микроорганизмов.

Проведена морфолого-культуральная оценка выделенной культуры. Установлено, что выделенная культура относится к грамотрицательным бактериям, палочка, с перетрихальным типом движения.

Список литературы

1 Шалбуев Дм.В. СПАВ как основной элемент техногенного воздействия кожевенно-меховых предприятий: Монография. - Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2008, 180 с.

2 Шалбуев Дм.В. Инженерные основы охраны водных объектов (на примере предприятий кожевенно-меховой отрасли): Учебное пособие. - Улан-Удэ: Изд-во ВСГУТУ, 2012, 100 с.

3 Шалбуев Дм.В. Управление качеством окружающей среды на кожевенно-меховых предприятиях: Учебное пособие. - Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2004, 122 с.