

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ

Аюпова А.Ж.¹, Хасенова Э.Ж.², Сембаева Д.Ж.³, Молдагулова Н.Б.⁴,

Сарсенова А.С.⁵, Дуамбеков М.С.⁶

Email: Ayupova1159@scientifictext.ru

¹Аюпова Айгуль Жанаевна – магистр, старший научный сотрудник;

²Хасенова Эльмира Жексембаевна – магистр, старший научный сотрудник;

³Сембаева Динара Жакантайкызы – научный сотрудник;

⁴Молдагулова Назира Балтабаевна – кандидат ветеринарных наук,
ведущий научный сотрудник;

⁵Сарсенова Айнура Сейтжаппаркызы – кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник;

⁶Дуамбеков Мусали Сарсембаевич – доктор технических наук, главный научный сотрудник,
Учреждение «Международная академия экологии»,
г. Нур-Султан, Республика Казахстан

Аннотация: отработаны и подобраны оптимальные параметры культивирования микроорганизмов, используемых для ферментации органических отходов. Установлено, что максимальное накопление биомассы отмечается при соблюдении следующих параметров культивирования: инокуляция клеток в концентрации от 10^6 КОЕ/см³ до 10^9 КОЕ/см³, температура культивирования от +37°C до +45°C, накопление биомассы происходит за 24 часа культивирования штаммов, наиболее оптимальным значением pH для культивирования микроорганизмов значение pH 5-7.

Ключевые слова: эффективные микроорганизмы, органические отходы, ферментация.

OPTIMIZATION OF THE CULTIVATION CONDITIONS OF EFFECTIVE MICROORGANISMS FOR FERMENTATION OF ORGANIC ANIMAL WASTES

Ayupova A.Zh.¹, Khassenova E.Zh.², Sembayeva D.Zh.³,

Moldagulova N.B.⁴, Sarsenova A.S.⁵, Duambekov M.S.⁶

¹Ayupova Aigul Zhanaevna - Master, Senior Researcher;

²Khassenova Elmira Zheksembayevna - Master, Senior Researcher;

³Sembayeva Dinara Zhakantaykyzy - Researcher;

⁴Moldagulova Nazira Baltabaevna - Ph.D., Leading researcher;

⁵Sarsenova Ainur Seitzhapparkyzy - Ph.D., Leading researcher;

⁶Duambekov Musagali Sarsembayevich - Doctor of Technical Sciences, Chief Researcher,
ESTABLISHMENT "INTERNATIONAL ACADEMY OF ECOLOGY",
NUR-SULTAN, REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Abstract: the optimal parameters of cultivation of microorganisms used for the fermentation of organic waste have been developed and selected. It was established that the maximum biomass accumulation is observed when the following cultivation parameters are observed: cell inoculation at a concentration of 10^6 CFU / cm³ to 10^9 CFU / cm³, cultivation temperature from + 37°C to + 45°C, biomass accumulation occurs within 24 hours of cultivation of strains, the most optimal pH value for cultivation of microorganisms pH 5-7.

Keywords: effective microorganisms, organic waste, fermentation.

Проблема утилизации отходов животноводства и птицеводства вблизи населенных пунктов весьма актуальна. Каждый год на фермах накапливаются тонны навозной и пометной массы. У многих производств отсутствуют установки для очистки сточных вод – все это пагубно влияет на состояние окружающей среды. Для того, чтобы предотвратить нитратное и микробное загрязнение почв, воздуха, окружающей растительности, поверхностных и грунтовых вод, нужно соблюдать технологии переработки и складирования животноводческих отходов. При накоплении отходов без переработки – они могут быть источниками негативного воздействия на человека и животных и приводить к различным заболеваниям [1].

Отходы оказывают сильное негативное влияние на экологическую среду, они являются благоприятной средой для роста и развития многих патогенных микроорганизмов, кроме того, в процессе их разложения выделяются ядовитые вещества – метан, сероводород, аммиак и другие соединения. Накапливающиеся с каждым годом отходы животноводства грозят не только экологии, но и экономике страны [2]. Ферментация отходов животноводства является одним из методов биоконверсии органических отходов, с помощью которого можно получить экологически чистое эффективное удобрение. Этот способ переработки отходов выгодно отличается от других способов небольшими капиталовложениями, низким энергопотреблением, отсутствием вторичных отходов и безопасностью [3].

Эффективность микробиологической ферментации животноводческих отходов напрямую зависит от эффективности применяемых биопрепаратов на основе микроорганизмов, способных к ускорению процесса биоконверсии органических отходов. Отсутствие собственных отечественных разработок в данном направлении и накопившиеся многочисленные экологические проблемы диктуют необходимость разработки биопрепаратов для ферментации органических отходов и получения на их основе удобрений для поддержания и повышения плодородия почвы. Многофункциональность препаратов на основе эффективных микроорганизмов делает их очень рентабельными для их производства и позволяет использовать для решения различных экологических проблем. В сложившейся экологической обстановке, разработка современных препаратов для переработки органических отходов приобретает особую актуальность, так как очистка окружающей среды от загрязняющих органических веществ играет важную роль.

Ключевым фактором успешного проведения ферментации органических отходов является подбор оптимальных параметров для роста и размножения микроорганизмов. Эффективные микроорганизмы должны отвечать следующим требованиям: быстро расти и легко культивироваться, сохранять жизнеспособность клеток и обладать высокой живучестью к неблагоприятным факторам окружающей среды. Поэтому цель работы состояла в оптимизации условий культивирования эффективных микроорганизмов для получения максимального выхода биомассы.

Материалы и методы.

Оптимизация условий культивирования эффективных микроорганизмов для ферментации органических отходов животных и птиц, обеспечивающих максимальный выход биомассы проводилась на монокультурах входящих в состав консорциума *Pediococcus acidilactici* КН2-8, *Pediococcus pentosaceus* СН3-28, *Enterococcus faecium* СН3-4, *Lactobacillus acidophilus* СН3-16, *Pediococcus acidilactici* П1-15, *Lactobacillus fermentum* СН3-2, *Pediococcus pentosaceus* П1-8, *Enterococcus faecium* КН2-9, *Enterococcus faecium* КП-1, *Bacillus subtilis* КН2-7, *Lactobacillus plantarum* СН3-27, *Bacillus coagulans* П1-5, *Bacillus licheniformis* П1-7, *Torulopsis kefir* var.kumis КН2-1 и *Kluyveromyces marxianus* П1-13.

Культивирование бактерий осуществлялось в колбах Эрленмейера объемом 100 мл на универсальных питательных средах MRS-1 и Nutrient broth в объеме 50 мл. Оптимальные условия культивирования подбирались путем инкубирования в интервале заданных температур (20°C; +37°C; +45°C; +60°C), времени максимального накопления биомассы (12 ч., 24 ч., 36 ч., 72 ч.), в зависимости от посевной концентрации клеток (10^5 КОЕ/см³, 10^6 КОЕ/см³, 10^7 КОЕ/см³, 10^8 КОЕ/см³, 10^9 КОЕ/см³) и pH среды (3, 4, 5, 7, 8, 9). Все исследуемые штаммы микроорганизмов культивировали общепринятым стационарным методом в термостате.

Результаты и обсуждение.

Для получения максимального выхода биомассы важным критерием является создание благоприятных условий культивирования штаммов микроорганизмов. В связи с этим, нами проводилась серия экспериментов по отработке оптимальных параметров культивирования активных штаммов микроорганизмов *Pediococcus acidilactici* KH2-8, *Pediococcus pentosaceus* CH3-28, *Enterococcus faecium* CH3-4, *Lactobacillus acidophilus* CH3-16, *Pediococcus acidilactici* П1-15, *Lactobacillus fermentum* CH3-2, *Pediococcus pentosaceus* П1-8, *Enterococcus faecium* KH2-9, *Enterococcus faecium* КП-1, *Bacillus subtilis* KH2-7, *Lactobacillus plantarum* CH3-27, *Bacillus coagulans* П1-5, *Bacillus licheniformis* П1-7, *Torulopsis kefir var.kumis* KH2-1 и *Kluyveromyces marxianus* П1-13 температуры инкубирования (+20°C, +37°C, +45°C, +60°C), по времени максимального накопления биомассы (12 ч., 24 ч., 36 ч., 72 ч.), в зависимости от посевной концентрации клеток (10^4 КОЕ/см³, 10^5 КОЕ/см³, 10^6 КОЕ/см³, 10^7 КОЕ/см³, 10^8 КОЕ/см³, 10^9 КОЕ/см³) и pH значений (3, 4, 5, 7, 8, 9) выращиваемых на питательных средах MRS-1 и Nutrient broth.

В процессе подбора питательной среды для культивирования бактерий с целью получения наибольшего выхода биомассы было установлено, что все исследуемые молочнокислые бактерии и дрожжи хорошо репродуцируются на среде MRS-1, кроме *Bacillus licheniformis* П1-7, которая растет на среде Nutrient broth. При этом средний биологический титр клеток молочнокислых бактерий и дрожжей на питательной среде MRS-1 составляет 10^9 КОЕ/см³, на среде Nutrient broth культуры *Bacillus licheniformis* П1-7 – 10^9 КОЕ/см³.

Далее нами исследовалась посевная концентрация клеток. Для определения посевной концентрации штаммы вносили в 50 мл питательной среды MRS-1 и Nutrient broth в количестве 1 мл с титром клеток 10^4 КОЕ/см³, 10^5 КОЕ/см³, 10^6 КОЕ/см³, 10^7 КОЕ/см³, 10^8 КОЕ/см³ и 10^9 КОЕ/см³. По истечению суток определяли накопление биомассы подсчетом клеток методом Коха. В качестве питательной среды для молочнокислых бактерий и дрожжей использовалась среда MRS-1 для культуры *Bacillus licheniformis* П1-7 среда Nutrient broth. В результате проведенных экспериментов установлено, что с увеличением концентрации вносимой суспензии, титр получаемой биомассы выше. Необходимо отметить, что все исследуемые культуры относятся к быстрорастущим микроорганизмам, накопление биомассы за 24 часа культивирования штаммов составило 10^9 КОЕ/см³ при начальном засеве клеток в концентрации 10^7 КОЕ/см³ и выше.

В следующей серии опытов изучалось накопление биомассы в зависимости от температуры в диапазоне +20°C, +37°C, +45°C, +60°C. Оценка накопления микробных клеток проводилась по изменению оптической плотности, оценивая рост в изучаемом температурном диапазоне.

Таким образом, в процессе изучения температурного оптимума культивирования микроорганизмов и накопления микробной биомассы установлено, что при температуре культивирования +37°C отмечается обильный рост микробных клеток *Pediococcus acidilactici* KH2-8, *Pediococcus pentosaceus* CH3-28, *Enterococcus faecium* CH3-4, *Lactobacillus acidophilus* CH3-16, *Pediococcus acidilactici* П1-15, *Lactobacillus fermentum* CH3-2, *Pediococcus pentosaceus* П1-8, *Enterococcus faecium* KH2-9, *Enterococcus faecium* КП-1, *Bacillus subtilis* KH2-7, *Lactobacillus plantarum* CH3-27,

Torulopsis kefir var.kumis КН2-1 и *Kluyveromyces marxianus* П1-13, высокие показатели оптической плотности при температуре +45°C отмечены у штаммов *Bacillus coagulans* П1-5 и *Bacillus licheniformis* П1-7. При температурах +20°C, +60°C значения ОП ниже, что свидетельствовало о среднем росте бактерий при данных температурах.

Оценка роста микроорганизмов при разных значениях кислотности среды проводилась путем определения оптической плотности культуральной жидкости на 2 сутки роста культур на питательных средах MRS-1 и Nutrient broth. Для этого готовились питательные среды с различной кислотностью (pH 3, pH 4 pH 5, pH 7, pH 8 pH 9). Все изученные эффективные микроорганизмы показали хороший рост при pH среды от 5,0 до 8,0. В результате культивирования штаммов на среде с заданными кислотностями было установлено, что обильный рост для всех культур микроорганизмов наблюдали при значении pH 5,0-7,0.

Выводы.

При отработке оптимальных параметров культивирования культур в зависимости от используемой питательной среды установлено, что максимальное накопление биомассы отмечается при использовании для культивирования молочнокислых бактерий и дрожжей среда MRS-1, а для культуры *Bacillus licheniformis* П1-7 – среда Nutrient broth.

Максимальное накопление биомассы отмечается при соблюдении следующих параметров культивирования: инокуляция клеток в концентрации от 10^6 КОЕ/см³ до 10^9 КОЕ/см³, температура культивирования от +37°C до +45°C, накопление биомассы за 24 часа культивирования штаммов составило 10^9 КОЕ/см³, наиболее оптимальным значением pH для культивирования микроорганизмов значение pH 5-7.

Таким образом, были отработаны и подобраны оптимальные условия для культивирования штаммов микроорганизмов, предназначенных для ферментации органических отходов.

Список литературы / References

1. Тищенко Н.Ф. Охрана атмосферного воздуха. Справочник, М.. Химия. 2003 г.
2. Капустин В.П., Уйменов А.В. Переработка отходов животноводства и птицеводства вопросы современной науки и практики // Университет им. В.И. Вернадского. 2007. Т.2, №4 (10). С. 23-26.
3. Sreenivasa N., Vidyasagar G. Development of eco-friendly bio-fertilizer using feather compost // Annals of Plant Sciences. 2013. №02 (07). P. 238-244.