

СТРУКТУРА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ОСАДКА СТОЧНЫХ ВОД ПРОИЗВОДСТВА НИТРАТОВ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Зиганишина Э.Э.¹, Багманова А.Р.¹, Азамов Р.З.², Девятияров Р.М.¹

¹ ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,
420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18;

² Федеральное казенное предприятие «Государственный научно-исследовательский
институт химических продуктов»
420033, г. Казань, ул. Светлая, д.1.

e-mail: mindubaev@iopc.ru

поступила в редакцию 15 ноября 2013 года

Аннотация

В ходе экспериментальных исследований выделены и идентифицированы основные культивируемые аэробные бактерии аборигенной микрофлоры донных отложений шламонакопителя Федерального казенного предприятия «Казанский государственного казенный пороховой завод» (ФКП «КГКПЗ»). Среди идентифицированных представителей активного микробного сообщества обнаружены микроорганизмы, участвующие в биодеструкции нитратов целлюлозы, а также участвующие в катаболизме продуктов распада исходного полимера. Выделенные микроорганизмы устойчивы к нитратам целлюлозы и в составе активного консорциума перспективны в области биотехнологической схемы обезвреживания и очистки промышленных стоков, содержащих нитроцеллюлозное волокно.

Ключевые слова: нитраты целлюлозы, микробная деструкция, микробное сообщество.

Введение. Промышленные отходы предприятий, производящих пороховую продукцию, в основном представлены большим количеством сточных вод, содержащих нитроцеллюлозное волокно. В ходе седиментации взвешенных частиц нитраты целлюлозы накапливаются в огромных объемах в виде донных отложений и аккумулируются в специальных сооружениях – шламонакопителях или прудах-отстойниках. Известно, что нитроцеллюлозное волокно очень слабо подвергается разрушению в естественной среде. В связи с этим, разработка эффективной биотехнологии микробной деструкции данного полимера является актуальной проблемой современного производства взрывчатой продукции и требует незамедлительного решения для снижения отрицательной нагрузки на прилегающую окружающую среду [1,2].

Анализ литературы показывает, что на сегодняшний день имеются научные работы по биологическому обезвреживанию различных органических азотсодержащих соединений в условиях производства, в том числе и нитратов целлюлозы. Однако на практике многие производства применяют методы щелочного гидролиза нитратов целлюлозы до простых веществ и последующего биологического окисления активным илом. Однако в процессе щелочного гидролиза образуются токсичные вещества распада нитратов целлюлозы, в частности окись азота [1-3].

Целью нашей работы явились выделение и идентификация аборигенной микрофлоры, обладающей способностью к деструкции нитратов целлюлозы. Идентификация, выделение и культивирование неизвестных микроорганизмов является одной из главных задач современной микробиологии [4,5]. Применение современных методов протеомики и метагеномики будет способствовать не только развитию представления о микроорганизмах, обитающих в сточных водах предприятий, но и позволит создать научную базу регуляции контроля биологической деструкции данных отходов. Таким образом, применяя самые современные молекулярные методы анализа микробных сообществ данной экологической ниши, нам удастся установить основных участников биодеструкции нитратов целлюлозы, а в дальнейшем получить и использовать не только отдельные активные деструкторы нитроцеллюлозного волокна, но и уникальные микробные сообщества, способные

экологично и эффективно разлагать данный вид отходов без использования физико-химических методов обезвреживания.

Основная часть.

Для решения поставленной цели применяли метод посева, выделения, культивирования и идентификации микроорганизмов. Метод позволяет выделять и устанавливать таксономическую принадлежность значительной части аэробных культивируемых микроорганизмов. Бактериальный посев образцов донных отложений шламонакопителя ФКП «КГКПЗ» (г. Казань) проводили на питательную среду – мясопептонный агар (МПА), используемый для выделения гетеротрофных бактерий. После получения чистых культур методом многократного пересева осуществляли идентификацию выделенных изолятов с использованием масс-спектрометра MALDI Biotyper (Bruker). Эта система за несколько секунд позволяет оценивать наличие уникального набора белков неизвестного микроорганизма, идентифицируя его.

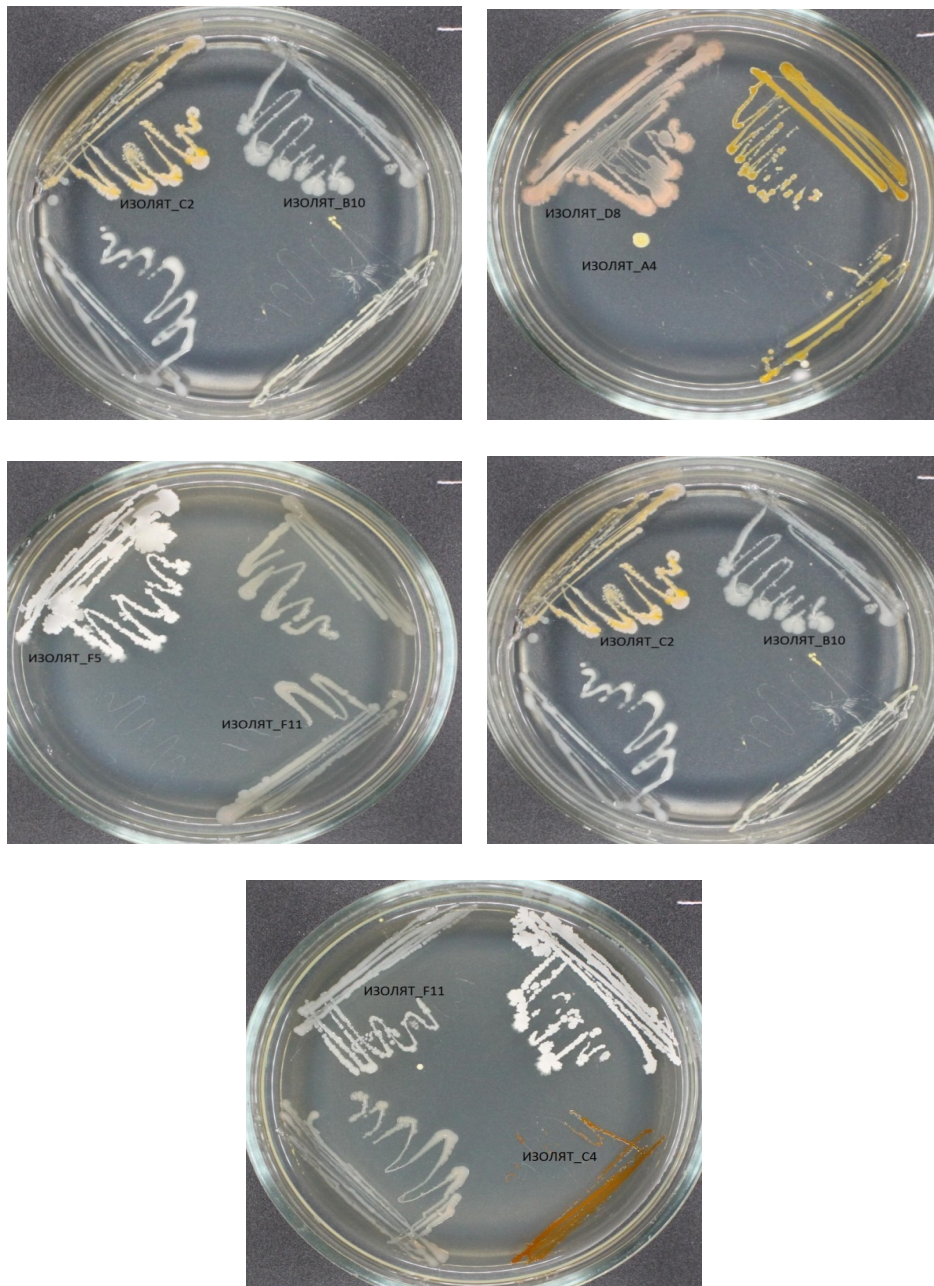


Рисунок 1. – Выделенные микроорганизмы аборигенной микрофлоры донных отложений шламонакопителя ФКП «КГКПЗ» (г. Казань).

Предварительно отдельную колонию суточной культуры каждого выделенного изолята наносили на мишень тонким слоем и далее добавляли 1 мкл органического растворителя с матрицей (органический растворитель содержит воду, ацетонитрил и муравьиную кислоту; матрица – альфа-циано-4-гидроксикоричная кислота).

В данной работе были исследованы 19 изолятов микроорганизмов, выделенных из образцов промышленных сточных вод, содержащих нитраты целлюлозы. Из 19 исследованных изолятов 4 оказались грамотрицательными, 8 были грамположительными бактериями. Остальные 7 изолятов идентифицировать не удалось.

В результате исследования из промышленных стоков, содержащих нитраты целлюлозы, были выделены и идентифицированы микроорганизмы родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, известные своей способностью участвовать в метаболизме нитратов целлюлозы [6], а остальные представители микрофлоры сточных вод, возможно, участвуют в дальнейшем катаболизме соединений, образовавшихся в ходе биодеструкции нитратов целлюлозы.

Устойчивость выделенных микроорганизмов к повышенной концентрации нитратов целлюлозы и способность некоторых бактерий к их разрушению делает представителей аборигенной микрофлоры заводских стоков перспективными с точки зрения разработки биотехнологической схемы обезвреживания и очистки заводских стоков от нитратов целлюлозы на основе применения активного микробного консорциума.

Таким образом, нами выделены и идентифицированы некоторые аэробные бактерии, обладающие устойчивостью и активностью к деградации нитратов целлюлозы. Однако среди выделенных изолятов были обнаружены 7 микроорганизмов, которые не удалось идентифицировать указанным методом. Возможно, неопределенные микроорганизмы являются уникальными в данном микробном консорциуме и представляют собой новые виды бактерий, не описанные ранее в литературе.

Таблица 1. – Результаты проведенной идентификации микроорганизмов в составе осадка сточных вод производства нитратов целлюлозы. Выделенные микроорганизмы идентифицированы с применением масс-спектрометра MALDI Biotyper (Bruker).

Изолят	Ближайший представитель (номер в базе данных NCBI) / достоверность идентификации
A4	<i>Staphylococcus aureus</i> ssp <i>aureus</i> DSM 3463 DSM (46170) / 2.345
A10	<i>Janthinobacterium lividum</i> CIP 106720T HAM (86181) / 2.236
B4	<i>Microbacterium phyllosphaerae</i> DSM 13468T DSM (124798) / 1.901
B5	<i>Aeromonas eucrenophila</i> 4224T DSM (649) / 2.101
B10	<i>Bacillus subtilis</i> DSM 5611 DSM (1423) / 1.847
C2	<i>Arthrobacter sulfonivorans</i> DSM 14002T DSM (121292) / 2.046
C4	<i>Enterobacter asburiae</i> RV412_A1_2010_05_LBK (61645) / 2.076
D8	<i>Bacillus vietnamensis</i> DSM 18898T DSM (218284) / 1.905
E1	<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32T DSM (1404) / 2.082
E3	<i>Bacillus cereus</i> DSM 31T DSM (1396) / 2.007
F5	<i>Bacillus subtilis</i> ssp <i>subtilis</i> DSM 10T DSM (135461) / 1.718
F11	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i> DSM 13022T HAM (104087) / 2.174

В дальнейшем планируем проведение отдельных экспериментальных работ с полученными изолятами микроорганизмов и выявление наиболее активных деструкторов нитратов целлюлозы. Полученные микроорганизмы можно будет использовать в качестве инокулята для деструкции отходов, содержащих нитраты целлюлозы.

Заключение. Идентификация и выделение микробных изолятов из экологических ниш, содержащих нитраты целлюлозы в качестве ксенобиотика-поллютанта, позволит сформировать уникальные консорциумы микроорганизмов-деструкторов указанного полимера. Предполагается, что на первом этапе активные деструкторы нитратов целлюлозы в подобных консорциумах будут доминировать и инициировать процесс биологической деструкции синтетического полимера в условиях заводских очистных сооружений. При этом приоритетной задачей является снижение степени нитрованности высокомолекулярного соединения, что способствует повышению доступности его молекул для других членов консорциума микроорганизмов.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке программы развития деятельности студенческих объединений Казанского (Приволжского) федерального университета (0613/06.13.02292, 2013 г.).

Список литературы

- 1) Souza J.V., Silva E.S., Silva F.T., Paiva T.C. Fungal treatment of a delignification effluent from a nitrocellulose industry // *Bioresour. Technol.* 2005. V.96. P.1936-1942.
- 2) Barreto-Rodrigues M., Souza J.V., Silva E.S., Silva F.T., Paiva T.C. Combined photocatalytic and fungal processes for the treatment of nitrocellulose industry wastewater // *J. Hazard Mater.* 2009. V.161. P.1569-1573.
- 3) El-Diwani G., El-Ibiari N.N., Hawash S.I. Treatment of hazardous wastewater contaminated by nitrocellulose // *J. Hazard Mater.* 2009. V.167. P.830-834.
- 4) Зиганшин А.М., Зиганшина Э.Э., Кляйнштаубер С., Протер Ю., Ильинская О.Н. Динамика развития метаногенного сообщества в процессе анаэробной утилизации отходов агропромышленного комплекса // *Acta Naturae.* 2012. Т.4. С.94-100.
- 5) Ziganshin A.M., Liebetrau J., Pröter J., Kleinstaub S. Microbial community structure and dynamics during anaerobic digestion of various agricultural waste materials // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013. V.97. P.5161-5174.
- 6) Патент РФ № 2026830. Способ биологической очистки сточных вод, содержащих нитроцеллюлозу. Исакова Е.П., Свиридов А.Ф., Балоян Б.М. Дата заявки 27.05.1993. Положительное решение от 20.01.1995.