

УДК.579.26

Б.К. Заядан*, А. Усербаева, К. Болатхан, Ф. Сарсекеева, А.К. Садвакасова
 Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан
 *e-mail: zbolatkhan@mail.ru

Безотходная технология очистки сточных вод с получением биодизельного топлива на основе штамма микроводоросли - продуцента масла

В результате массового культивирования активного штамма микроводоросли *Chlorella vulgaris-1* на сточной воде в соотношении 1:1 к питательной среде, максимум роста приходится на 16 сутки культивирования, численность клеток при этом составляет - 50×10^6 кл/мл. Биохимический анализ клеток штамма *Chlorella vulgaris-1* показал содержание белков составляет 35%, углеводов - 29%, липидов - 30% и золы - 6% от сухого веса, что свидетельствуют о возможности использования штамма *Chlorella vulgaris-1* с двойной пользой как в экологической биотехнологии, так и в биоэнергетике. Определен жирнокислотный состав биомассы активного штамма микроводоросли *Chlorella vulgaris-1*.

Ключевые слова: Безотходная технология, микроводоросли *Chlorella vulgaris-1*, сточная вода, массового культивирования, липиды, жирная кислота, биодизель.

Б.К. Заядан, А. Усербаева, К. Болатхан, Ф. Сарсекеева, А.К. Садвакасова

Май продуценттері микробалдырларының штамдары негізінде қалдық суларды тазарту мен биодизельді отын алудың қалдықсыз технологиясы

Ластанған сумен қоректік ортаның 1:1 қатынасында микробалдырлар *Chlorella vulgaris-1* белсенді штаммын жаппай дақылдау нәтижесінде, олардың жоғарғы өсімі 16-күні байқалды. Бұл кездегі клеткалар саны 50×10^6 кл/мл-ді көрсетті. *Chlorella vulgaris-1* клетка штамының биохимиялық анализі мынадай көрсеткіштер көрсетті: белок 35%, көмірсу - 29%, липид - 30% және күлділігі құрғақ салмақтың - 6%-н көрсетті, яғни *Chlorella vulgaris-1* штаммын 2 жақты пайдалы экологиялық биотехнология мен биоэнергетикада пайдалануға болатынын көрсетеді. Микробалдыр *Chlorella vulgaris-1* активті штамы биомассасының майқышқылдық құрамы анықталды.

Түйін сөздер: Қалдықсыз технология, *Chlorella vulgaris-1* микробалдыры, қалдық су, массалық дақылдау, липидтер, май қышқылдары, биодизель.

B.K. Zayadan, A. Userbaeva, K. Bolatkhan, F. Sarsekeeva, A.K. Sadvakasova

Non-waste technology of wastewater treatment and biodiesel production based on oil producer microalgal strains

As a result of mass culture of the active microalgal strain *Chlorella vulgaris-1* in the wastewater and the culture medium with a 1:1 ratio, the growth reached a maximum level after 16 hours of cultivation, the number of cells in that case is - 50×10^6 cells / ml. Biochemical analysis of the strain *Chlorella vulgaris-1* showed that, the protein content was 35%, carbohydrate - 29%, lipid - 30% Ash - 6% of the dry weight which indicated that, the potential usage of the *Chlorella vulgaris-1* strain had two advantages which are: using it in the environmental biotechnology and in the bio-energy. Defined fatty acid composition of the active biomass of the microalgal strain *Chlorella vulgaris-1*.

Keywords: Non-waste technology, microalgae *Chlorella vulgaris-1*, wastewater, large-scale cultivation, lipids, fatty acids, biodiesel.

Технология использования микроводорослей в качестве топливного сырья занимают одно из центральных мест среди подходов современной альтернативной энергетики. В условиях увеличения потребности человечества в энергетических ресурсах, при ограниченных и уменьшающихся запасах топлива органического происхождения, ученые фокусируют внимание на технологиях получения топлива из возобновляемых источников. Исследования показали что, микроводоросли в 8-25 раз превосходят по потенциальному энергетическому выходу пальмовое масло, и в 40-120 раз рапсовое масло, которые являются типичными представителями растительных масленичных культур. Масло, производимое микроводорослями в основном состоит из нейтральных липидов: моно-, ди- и триглицеридов с ненасыщенными жирными кислотами [1, 2].

Создание новой технологии получения биодизеля из биомассы микроводорослей, активно продуцирующих липиды в настоящее время для Казахстана актуально, перспективно и представляет большой интерес. Естественно, сточные воды содержат большое количество макро- и микроскопических организмов. Количество любых видов микро-и макроорганизмов в сточных водах определяет эффективность очистки.

Целью работы являлось изучение возможности использования коммунально-бытовых сточных вод, как среды культивирования активных штаммов микроводорослей - продуцентов масла для получения биомассы.

Материалы и методы

В работе использованы штаммы микро-водорослей *Chlorella vulgaris-1* выделенные из сточных вод очистных сооружений г.Алматы и коллекции лаборатории биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби. Микроводоросли выращивали на питательной среде при освещении лампами дневного света (4000 люкс) и температуре 25-28⁰С. В эксперименте использовался лабораторный микробиореактор объемом 40 л. Сточная вода отбиралась вторичный отстойник после аэротенка и водоканал очистных сооружений г. Алматы. Для определения БПК₅ пробы воды инкубировали в темноте при постоянной температуре 20⁰С в течении 6 дней с последующим определением концентрации растворенного в воде кислорода до и после инкубации с помощью специального прибора «Dissolved oxygen meter – YSI 5100» [3]. Для определения органического вещества в суспензии микроводорослей использовали бихроматный метод. Содержание общего белка определял по Лоури, Контроль за численностью клеток микроводорослей помощью камеры Горяева. Для определения липидов, брали навеску массой 15-20 мг экстрагировали смесью хлороформ: метанол в соотношении 2:1. 0,1-0,2 мл смеси и упаривали её на кипящей водяной бане. Затем добавляли 0,2 мл серной кислоты, выдерживали на бане 10 мин. Пробирки охлаждали, прибавляли 1 мл фосфованилинового реактива, тщательно перемешивали и ставили на кипящую водяную баню ещё на 15 мин. После этого содержимое пробирок охлаждали и колориметрировали на приборе КФК-3 при 540 = λ нм, l = 1 см [4, 5]. Жирнокислотный состав хлореллы определен методом хроматомасс-спектрометра (GCMS).

Результаты и их обсуждение

Для работы нами были выбраны очистные сооружения г.Алматы. Сточная вода отбиралась с двух различных мест: проба 1- вторичный отстойник после аэротенка, проба 2 и 3 – водоканал.

Анализ качества сточных вод в отстойнике после биологической очистки очистного сооружения г.Алматы показывают, что содержание загрязняющих веществ в них стабильно превышают нормативы предельно допустимых концентраций.

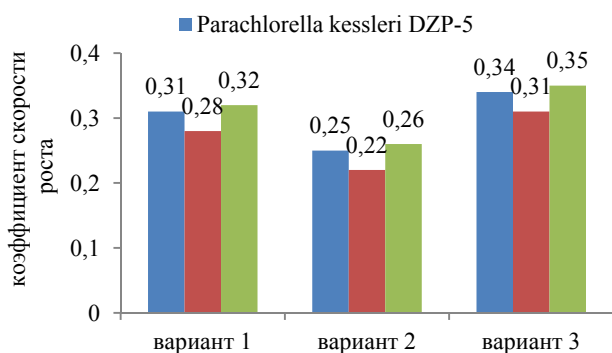


Рисунок 1 – Коэффициенты скорости роста выделенных штаммов, культивированные на различных средах

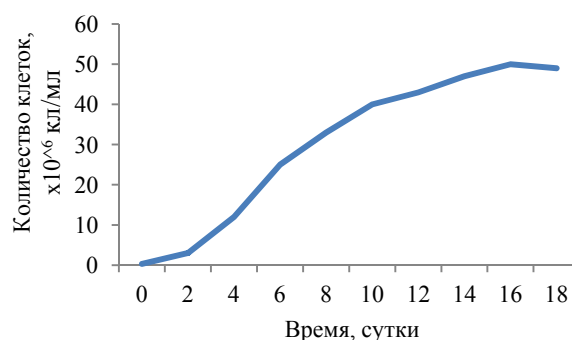


Рисунок 2 – Динамика роста клеток активного штамма микроводоросли *Chlorella vulgaris-1*

Чтобы определить оптимальную концентрацию сточных вод для культивирования вновь выделенных *Chlorella vulgaris-1* и коллекционных штаммов *Parachlorella kessleri DZP-5*, *Parachlorella kessleri Uz-1* микроводоросли на трех различных средах: вариант 1 (сточная вода), вариант 2 (сточная вода + чистая вода в соотношении 50%:50%) и вариант 3 (сточная вода + питательная среда Тамия, в соотношении 50%:50%). Сточная вода была отобрана из водоканала после биологической очистки. Инкубация производилась в течение 14 дней с начальным числом клеток -1x10⁶ кл/мл в суспензии (рисунок 1).

По диаграмме видно, что все исследуемые культуры имеют интенсивный рост в третьем варианте, в связи с богатым минеральным составом среды. Безусловно, можно утверждать, что

дополнительно добавление микро- и макроэлементов в сточную воду способствует ускорению процесса биоремедиации.

Для способности к биоремедиации выделенных штаммов микроводорослей, был проанализирован физико-химический состав сточных вод после альголизации (таблица 1). Анализ физико-химических данных приведенных в таблице показал, что в результате опыта удалось понизить концентрацию органических загрязнений (БПК₅) в среднем в 75%. (таблица 1).

Таблица 1 – Физико-химический состав сточных вод до и после культивирования в нем штамма микроводоросли *Chlorella vulgaris*-1

№ п.п.	Определяемая характеристика	Результаты		Единица измерения	% очистки
		Контроль	Опыт		
1	рН	7,0	7,3		-
2	Взвешенные вещества	58	4,06	мг/л	93%
3	Запах	5	0	баллы	100%
4	БПК ₅ ,	57	8,71	мгО ₂ /л	97%
5	Окисляемость,	38	1,9	мгО ₂ /л	95%
6	Аммиак,	9	-	мг/л	100%
7	Нитриты,	0,2	-	мг/л	100%
8	Нитраты,	0,8	-	мг/л	100%
9	Фосфаты,	3,9	-	мг/л	100%

Как показано выше, эффективным способом очистки загрязненных водоемов может быть их альголизация, а т.к. микроводоросли являются природным источником важных компонентов (белков, углеводов, жиров и т.д.). Это означает, что необходимость в получении больших количеств водорослевой массы - путь к решению и экологической, и кормовой проблемы. Нами выращена культура микроводоросли *Chlorella vulgaris*-1 в лабораторном фотобиореакторе со сточной водой и питательной средой Тамия в соотношении 50%:50%. Культивирование проходило в течение 18 суток, при температуре 27-28°C и непрерывном освещении в 4000 люкс. Исходное число клеток активного штамма составляло $0,3 \times 10^6$ кл/мл (рисунок 2).

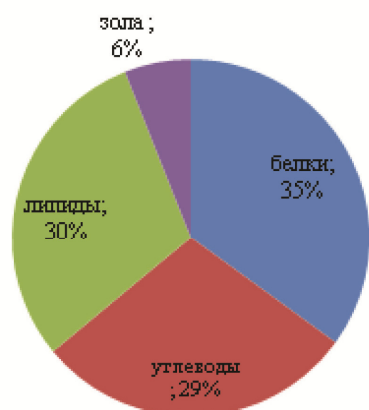


Рисунок 3 – Соотношение основных клеточных компонентов штамма *Chlorella vulgaris*-1

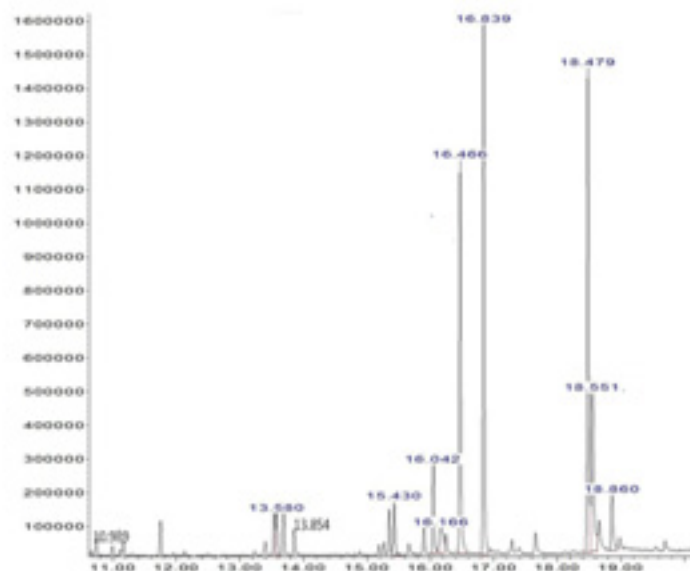


Рисунок 4 – Хроматограмма жирных кислот штамма микроводоросли *Chlorella vulgaris*-1 с использованием GCMS

В процессе опыта число клеток штамма микроводоросли увеличивалось и достигло максимума к 16 суткам культивирования, что составляло - 50×10^6 кл/мл. С 17 дня эксперимента культивирование

клеток характеризовалось незначительным снижением числа клеток. По истечению 18 суток культивирования, было определено количество сухого веса – 8,5 г/л. Нами были проанализированы основные компоненты клеток вновь выделенного штамма микроводоросли, выращенного на коммунально-бытовых сточных водах. В результате химического анализа клетки штамма *Chlorella vulgaris*-1, содержание белков составляет 35%, углеводов - 29%, липидов - 30% и зола – 6% от сухого веса (рисунок 3). Количество основных компонентов в клетках данного активного штамма достигает высокие значения липидов и белков, что свидетельствуют о возможности использования штамма *Chlorella vulgaris*-1 с двойной пользой как в экологии, так и в биоэнергетике.

С целью изучения использования штамма *Chlorella vulgaris*-1 в биоэнергетики, нами проведен анализ жирнокислотный состав клеток исследуемого штамма (рисунок 4). В результате хромато-масс-спектро-метра в клетках исследуемого штамма были определены жирные кислоты, из них 4 важных кислот такие, как лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, стеариновая (НЖК) и линолевая кислота (ПНЖК). Накопление в биомассе жирных кислот в 1 мг сухого веса у данного штамма может выглядеть таким образом: линолевая ($4,7962 \times 10^{-3}$ мг) > пальмитиновая ($2,5139 \times 10^{-3}$ мг) > стеариновая ($0,4355 \times 10^{-3}$ мг) > миристиновая ($0,12085 \times 10^{-3}$ мг) > лауриновая ($0,0525 \times 10^{-3}$ мг). Результаты анализа показывают, что штамм микроводоросли *Chlorella vulgaris*-1 содержит больше 30% ПНЖК в клетке. Подводя итог полученных данных можно сказать о том, что выращивание выделенного штамма микроводоросли *Chlorella vulgaris*-1 в установленных оптимальных условиях дает возможность использовать его для крупномасштабного культивирования с целью производства биодизеля в Казахстане.

Литература

- 1 Griffiths M., Harrison, S. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production // J. Appl. Phycol. – 2009. – Vol.21. – P. 493–507.
- 2 Chisti Y. Biodiesel from microalgae // Biotechnology Advances. – 2007. - V. 25. – P. 294– 306.
- 3 Huntley M., Redalje D. CO2 mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal // Mitigation and adaptation strategies for global change. – 2007. – V.12. – P. 573–608.
- 4 Лурье Ю. Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. – М.: Химия, 1984. – 284 с.
- 5 Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф., Лукина Л.Ф. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. – Киев: Наукова думка, 1975. – С. 247.

УДК 504.064

У.Р. Идрисова¹, Т.Б. Мусалдинов^{1*}, Д.Ж. Идрисова¹, О.Н. Ауэзова², С.А. Айткельдиева²,
А.К. Саданов², И.Т. Мырзадаулетова¹

¹Институт микробиологии и вирусологии, г. Алматы, Казахстан

²ТОО «Таза Су», г. Алматы, Казахстан,

*e-mail: imv_rk@list.ru

Влияние различных доз химически модифицированного цеолита на микробиологическую активность нефтезагрязненной почвы

Исследования показали, что внесение цеолита в нефтезагрязненную почву благоприятно влияет на спонтанную микрофлору: значительно увеличивается доля гетеротрофных бактерий, актиномицетов и углеводородокисляющих микроорганизмов, последним, как известно, принадлежит решающая роль в утилизации углеводородов нефти. Численность микромицетов снижается. Самыми эффективными дозами вносимого цеолита были 5,0 и 7,5 т/га. При этих же параметрах отмечалась высокая каталазная и дегидрогеназная активность

Ключевые слова: модифицированный цеолит, нефть, почва, каталаза, дегидрогеназа.

У.Р. Идрисова, Т.Б. Мусалдинов, Д.Ж. Идрисова, О.Н. Ауэзова, С.А. Айткельдиева, А.К. Саданов, И.Т. Мырзадаулетова

Химиялық модифицирленген цеолиттің әртүрлі мөлшерінің мұнаймен ластанған топырақтың микробиологиялық белсенділігіне әсері

Зерттеу нәтижелері мұнаймен ластанған топыраққа цеолитті енгізу топырақ микрофлорасына оңтайлы әсер ететінін көрсетті: гетеротрофты бактерия белгілі мөлшерде өскен, актиномицет және көмірсутек тотықтырғыш микроорганизмдер, соңғысы, белгілі болғандай, мұнай көмірсутектерін жоюда шешуші қызмет атқарады.