

***Ткаченко Наталья Николаевна***

студентка

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный  
национальный исследовательский университет»

г. Белгород, Белгородская область

***Ткаченко Светлана Николаевна***

студентка

ФГБОУ ВО «Московский педагогический  
государственный университет»

г. Москва

***Меньшиков Никита Олегович***

студент

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный  
национальный исследовательский университет»

г. Белгород, Белгородская область

***Сиротин Александр Андреевич***

канд. биол. наук, доцент, профессор

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный  
национальный исследовательский университет»

г. Белгород, Белгородская область

## **ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ПОБОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПРОИЗВОДСТВА БИОГАЗА**

*Аннотация:* в настоящей статье отражается проблематика недостаточной детальной изученности количественных и качественных характеристик колоний микроорганизмов, населяющих субстрат. В результате исследования было установлено, что количество микроорганизмов в эффлюенте «Дображиватель» и «Лагуна» значительно меняется в течение года по датам проведения анализа, а также зависит от вида эффлюента. Качественный состав бактерий в течение проведения серий опытов не изменяется.

*Ключевые слова:* биогазовая станция, метантенк, эффлюент, побочный продукт, анаэробное сбраживание, анаэроустат.

*DOI: 10.21661/r-112351*

В связи недостаточной детальной изученности количественных и качественных характеристик колоний микроорганизмов, населяющих субстрат, целью данной работы, является определение количественного и качественного состава, а также морфологических признаков микрофлоры в побочных продуктах производства биогаза.

При этом решаются следующие задачи:

- проведение пробоотбора эффлюента (твердый и жидкий) и осуществление посева;
- количественное определение микрофлоры;
- определение обнаруженных микроорганизмов с точностью до рода.

Для достижения поставленной цели, нами были использованы такие методы как: анализ микрофлоры методом разбавления, микроскопическое исследование микроорганизмов и метод статистической обработки цифровых данных (дисперсионный анализ и разностный метод).

В результате исследования было установлено, что количество микроорганизмов в эффлюенте «Дображиватель» и «Лагуна» значительно меняется в течение года по датам проведения анализа, а также зависит от вида эффлюента. Качественный состав бактерий в течение проведения серий опытов не изменяется. Отличия у разных эффлюентов в различные периоды обнаруживаются главным образом в количественном соотношении между группами микроорганизмов, а не в их качественном составе, определённые нами микроорганизмы являются факультативными анаэробами, поэтому требуется более детальное исследование в анаэроостате.

Применение в сельском хозяйстве, в частности животноводстве, технологий, интенсифицирующих их производительность, неминуемо привело к образованию и накоплению большого количества различных отходов. На сегодняшний день в нашей стране в зонах интенсивного развития аграрной промышленности, активно внедряются новейшие системы контролируемой переработки отходов – биогазовые станции [1; 2; 4].

Современные технологии открывают широкий спектр возможностей переработки в биогаз практически любых видов органического сырья. Так, в процессе анаэробной переработки сырья животноводческих ферм, в метантенках биогазовых станций образуется горючий газ, состоящий на 60% из метана, и твердый осадок, содержащий в себе практически весь азот и другие питательные вещества, входящие в состав исходного материала.

Одним из достоинств биогазовой технологии, в условиях анаэробной переработки отходов, является обеззараживание твердой фракции – побочного продукта технологии, используемой впоследствии в качестве удобрения, от патогенной микрофлоры и гельминтов. Такие удобрения (далее эффлюент) улучшают оборот макро- и микроэлементов в системе почва-растение, стимулируют деятельность почвенных организмов, вносят вклад в увеличение проницательной способности и гигроскопичности почв, предотвращают их эрозию [5; 6].

Органические вещества, содержащиеся в эффлюенте, являются базой для развития микроорганизмов. Микрофлора твердого остатка складывается преимущественно из микрофлоры желудочно-кишечного тракта животных и внешней среды [3; 7].

Для анализа микрофлоры эффлюента мы провели микроскопическое исследование колоний, выросших в чашках Петри.

Исследуя микропрепараты каждого анализируемого типа эффлюента, были обнаружены микроорганизмы таких родов, как *Solmonella*, *Escherichia*, *Proteus* и *Enterobacterium* (на среде Левина), *Bacillus* и *Enterococcus* (на питательном агаре).

При анализе качественного состава микрофлоры эффлюента «Дображиватель» и «Лагуна» по срокам посева, встречаются все обнаруженные нами колонии микроорганизмов, меняется только их количество. Все определённые нами микроорганизмы являются факультативными анаэробами и в процессе метаболизма образуют кислоты и выделяют газ.

Анализ численности КМАиФАНМ нами произведен во всех образцах исследуемого эффлюента. Посев производился на питательный агар – поверхностным способом.

Таблица 1

Общая численность КМАиФАНМ в эффлюенте «Лагуна»  
и «Дображиватель» по срокам посева

Разбавление	сроки	Лагуна	Дображиватель
1*10 <sup>6</sup>	14.07.15	268,16±13,98	147,67±28,62
	20.07.15	353,51±97,31	432,33±60,92
	9.09.15	416,66±50,31	462,51±31,67
	19.10.15	221±84,02	27,67±4,64
	13.05.16	337,33±27,66	267,67±8,75

Исходя из приведённых данных таблицы, можно сделать вывод о том, что при дате посева 9.09.15 количество КМАиФАНМ наибольшее, а при 19.10.15-наименьшее. Значительная разница количеств колоний выросших на чашках Петри в разное время посева, может объясняться погодными условиями, влияющими на жизнь и активность микроорганизмов, так как в большинстве случаев эффлюент хранится под открытым небом, при этом часть микроорганизмов погибает, а часть замирает, находясь в условиях так называемого «стресса».

Таблица 2

Обработка разностным методом данных, полученных  
при вычислении КМАиФАНМ (КОЕ/г), в разведении 1:10<sup>6</sup> на МПА,  
эффлюента «Лагуна» по срокам посева

Побочный продукт: лагуна		Sd (1–2)	t <sub>ф</sub> (1–2)
20.07.15	14.07.15		
X <sub>ср1</sub> =353,5	X <sub>ср2</sub> =268,16	84,32	1,01
9.09.15	14.07.15	Sd (1–2)	t <sub>ф</sub> (1–2)
X <sub>ср1</sub> =416,66	X <sub>ср2</sub> =268,16	37,89	3,92
14.07.115	19.10.15	Sd (1–2)	t <sub>ф</sub> (1–2)
X <sub>ср1</sub> =268,16	X <sub>ср2</sub> =221	70,49	0,66
9.09.15	20.07.15	Sd (1–2)	t <sub>ф</sub> (1–2)
X <sub>ср1</sub> =416,66	X <sub>ср2</sub> =353,5	55,8	1,13
20.07.15	19.10.15	Sd (1–2)	t <sub>ф</sub> (1–2)
X <sub>ср1</sub> =353,5	X <sub>ср2</sub> =221	46,01	2,88

9.09.15	19.10.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=416,66$	$X_{cp2}=221$	41,42	4,72
13.05.16	14.07.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=337,3$	$X_{cp1}=268,16$	16,8	4,11
20.07.15	13.05.16	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=353,5$	$X_{cp1}=337,3$	75,26	0,21
9.09.15	13.05.16	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=416,6$	$X_{cp1}=337,3$	24,02	3,3
13.05.16	19.10.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=337,3$	$X_{cp2}=221$	60,9	1,9

Таблица 3

Обработка разностным методом данных, полученных  
при вычислении КМАиФАНМ (КОЕ/г), в разведении  $1:10^6$  на МПА,  
эффлюента «Дображиватель» по срокам посева

Побочный продукт: дображиватель		Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
20.07.15	14.07.15		
$X_{cp1}=432,33$	$X_{cp2}=147,66$	125,17	2,27
9.09.15	14.07.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=462,5$	$X_{cp2}=147,66$	4,03	78,12
14.07.15	19.10.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=147,66$	$X_{cp2}=27,66$	24,19	4,96
9.09.15	20.07.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=462,5$	$X_{cp2}=432,33$	36,11	0,83
20.07.15	19.10.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=432,83$	$X_{cp2}=27,66$	57,11	6,93
9.09.15	19.10.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=462,5$	$X_{cp2}=27,66$	27,25	15,95
13.05.16	14.07.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=267,7$	$X_{cp1}=147,7$	20,3	5,9
20.07.15	13.05.16	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=432,8$	$X_{cp1}=267,7$	53,8	3,01
9.09.15	13.05.16	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=462,5$	$X_{cp1}=267,7$	23,2	8,4
13.05.16	19.10.15	Sd (1–2)	$t_{\phi}$ (1–2)
$X_{cp1}=267,7$	$X_{cp2}=27,7$	23,9	10

Проанализировав полученные данные, можно сделать вывод, что при уровне вероятности  $P_{0,99}$  и степени свободы 4,59, различия достоверны.

### *Список литературы*

1. Германович В. Альтернативные источники энергии. Практические конструкции по использованию энергии ветра, солнца, воды, земли, биомассы / В. Германович, А. Турилин. – СПб.: Наука и Техника, 2011.
2. Дайнеко А.А. Развитие биогазовых технологий в РФ / А.А. Дайнеко, Д.Ю. Суслов // Материалы VI Международной студенческой электронной научной конференции «Студенческий научный форум» 15 февраля – 31 марта 2014 года.
3. Иорданский А. Бесплатный биогаз, или Биотехнология для свинофермы / А. Иорданский // Химия и жизнь. – 1988. – №1. – 96 с.
4. Корзникова М.В. Стратегические аспекты управления отходами животноводства и птицеводства в целях минимизации негативного воздействия на окружающую среду: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / М.В. Корзникова. – М., 2006. – 137 с.
5. Санжаровская М.И. Газ и удобрения из биоотходов / М.И. Санжаровская // Реферативный журнал. – М., 2008. – №3. – 650 с.
6. Соуфер С. Биомасса как источник энергии / С. Соуфер. О. Заборски. – М.: Мир, 1985. – 368 с.
7. Blaschek H.P., Ezeji T., Scheffran J. (eds.) Biofuels from Agricultural Wastes and Byproducts. Blackwell Publishing, John Wiley & Sons, 2010. – 265 p.