

УДК 631.879.4

**ВЛИЯНИЕ БИОДОБАВКИ НА НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП
ПРОЦЕССА КОМПСТИРОВАНИЯ ТВЕРДЫХ БЫТОВЫХ
ОТХОДОВ НА ОСНОВЕ СООБЩЕСТВА БАКТЕРИЙ
РОДА *BACILLUS***

С.А. Ярлыченко, С.Ю. Селивановская

Аннотация

Для интенсификации начального этапа процесса компстирования предложено использовать бактериальное сообщество, состоящее из представителей бактерий рода *Bacillus*: *B. cereus*, *B. subtilis* и *B. circulans*. Приведены динамики изменения основных показателей процесса компстирования и продемонстрировано, что внесение добавки ускоряет процесс минерализации органического вещества и снижает уровень фитотоксичности компоста.

Введение

В настоящее время в республике Татарстан объем образующихся твердых бытовых отходов (ТБО) составляет около 800–1000 тыс. т в год и их количество ежегодно увеличивается в среднем на 3%, [1, 2]. Современная концепция управления в обращении с ТБО, а также директивы по полигонам стран Европейского союза утверждают, что, во-первых, следует снизить количество органических отходов, направляемых на полигон, а во-вторых, на полигон не должны поступать переработанные отходы [3, 4]. Этим требованиям соответствует такой способ переработки ТБО, как компстирование. В процессе компстирования органический субстрат претерпевает физические, химические и биохимические превращения с образованием стабильного гумифицированного конечного продукта, сходного по своим физическим свойствам с почвой или перегноем [5, 6].

Основным компонентом ТБО является целлюлоза. Поэтому более полной и быстрой переработке отходов может способствовать искусственная интродукция микроорганизмов, обладающих ферментом целлюлазой. Наиболее активными продуцентами целлюлаз являются микромицеты. Однако в литературе были обнаружены сведения о том, что споры некоторых грибов могут вызывать аллергию, респираторные, кожные заболевания, а также способны стать причиной увеличения фитотоксичности компоста [7–10]. В то же время ряд авторов сообщает о том, что достаточно высокой целлюлазной активностью обладают бактерии рода *Bacillus* [11–13]. Более того показано, что бациллы могут оказывать антагонистический эффект в отношении широкого спектра фитопатогенных грибов, вызывающих заболевания у различных видов растений [14].

Таким образом, можно предположить перспективность применения бактериальных биологических добавок для ускорения процесса компостирования.

В данной работе проведен анализ процессов компостирования ТБО, осуществляемых традиционным способом и с использованием интенсивной биотехнологии, основанной на интродукции в компостируемую смесь сообщества бактерий рода *Bacillus*.

1. Материалы и методы исследования

Компостирование отходов массой по 4 кг осуществляли в лабораторных сосудах. Состав компостируемого материала представлял собой смесь кухонных отходов, скошенной травы, бумаги, картона и текстиля. Объем биодобавки, представляющей собой сообщество из трех видов бактерий: *B. cereus*, *B. subtilis* и *B. circulans* составил 10% от массы компостируемой смеси. В контрольный вариант добавили аналогичное количество водопроводной воды. В процессе компостирования смеси перемешивали один раз в 5 дней. Отбор проб для анализа осуществляли на 1-е, 6-е, 13-е, 20-е, 27-е, 42-е, 55-е и 69-е сутки компостирования.

Определение целлюлазной активности. 1 г воздушно-сухого образца помещали в колбу объемом 50 мл, добавляли 5 мл 1%-ного раствора КМЦ, 7.5 мл фосфатного буфера, 0.5 мл толуола. Реакционную смесь инкубировали в термостате при 27–30°C в течение 5 суток. В контроле вместо субстрата КМЦ использовали дистиллированную воду [15]. По окончании инкубации в пробирку отбирали 4 мл фильтрата, добавляли 2 мл щелочного реагента на основе динитросалицилловой кислоты (ДНСК). Пробирки инкубировали в течение 10 мин на водяной бане при 95°C, охлаждали реакционную смесь и измеряли поглощение при 540 нм [16].

Определение респираторной активности. Навеску образца массой 3 г в холщовом мешочке помещали в герметично закрытую колбу, в которую предварительно наливали 20 мл 0.05 М раствора гидроксида натрия [17]. Колбу инкубировали 24 ч при 25°C. Через 24 ч к щелочи добавляли 2 мл 0.5 М раствора хлорида бария и 3–4 капли индикаторного раствора фенолфталеина. Остаточное содержание гидроксида натрия титровали разбавленной соляной кислотой. В качестве контроля осуществляли аналогичную процедуру без почвы.

Определение фитотоксичности компостируемых смесей. 15 штук семян редиса красного круглого с белым кончиком *Raphanus sativus* укладывали равномерно на фильтровальную бумагу в чашку Петри и наливали по 5 мл исследуемых экстрактов. В качестве контроля использовали воду. Чашки покрывали и помещали в термостат при температуре 20°C. Через 72 ч измеряли длину корневых проростков [17].

Определение растворимого органического углерода (РОУ). Одну часть образца смешивали с 5 частями 0.5 М раствора сульфата калия, перемешивали на ротаторе 30 мин и фильтровали [17]. Затем смешивали 5 мл фильтрата с 10 мл 0.05 М раствора бихромата калия и с 10 мл концентрированной серной кислоты. После кипячения добавляли 100 мл дистиллированной воды, 1–2 капли раствора-индикатора дифениламина и титровали 0.1 М раствором соли Мора. Аналогичную процедуру проводили с контролем на реагенты.

Определение содержания органического вещества (ОВ). Навеску сухого образца в фарфоровом тигле сжигали в муфельной печи при температуре 550°C в течение 5 ч. Массовую долю органического вещества вычисляли по разнице между сухим веществом и золой [18].

Статистическая обработка результатов. Все измерения проводили в трех повторностях. Обработку результатов осуществляли в программа Origin 7.5 и Excel. Достоверность различий полученных значений оценивали с помощью критерия Стьюдента.

2. Результаты и обсуждение

Наиболее интенсивно процесс разложения органических веществ в аэробных условиях протекает в течение первых месяцев. Поэтому интенсивность процесса компостирования оценивали в течение 70 суток, анализируя целлюлазную и респираторную активности компостируемых смесей, содержание в них растворимого органического углерода, органического вещества, а также оценивали фитотоксичность компостируемых смесей.

Изменение содержания органического вещества в процессе компостирования представлено на рис. 1. Установлено, что в течение 70 суток происходит традиционное снижение содержания органического вещества, что связано с его минерализацией и выделением CO₂. В контрольном варианте отмечено его снижение на 27% от исходного содержания. Больше снижение обнаружено в случае компостирования смеси с биодобавкой (на 32% от исходного содержания), однако на протяжении всего эксперимента различия в скорости снижения оказались недостоверными. Аналогичная интенсивность минерализации органического вещества (снижение на 24–60% от исходного количества) продемонстрирована в работах американских и отечественных авторов, где компостированию подвергали свиной навоз, отходы молочной промышленности с опилками и стружками, кухонные, садовые и твердые бытовые отходы [9, 19, 20].

В качестве показателя, отражающего степень зрелости компоста, многими авторами предлагается использовать содержание растворимого органического углерода (РОУ) [19–22]. Содержание РОУ в компостных смесях на начальном этапе компостирования находилось на уровне 52.9–57.8 мг/г (рис. 2). Такое содержание характерно для компостов из бытовых отходов или осадков сточных вод (13.3–65.5 г/кг) и зависит от состава исходных материалов [21, 23]. К концу эксперимента в контрольном и опытном вариантах данный показатель снизился на 73.8 и 87.1% и составил 13.85 и 7.45 мг C_{орг}/г соответственно, что подтверждает эффективность использования сообщества бактерий рода *Bacillus* в качестве биодобавки, ускоряющей проведение процесса компостирования. Следует отметить, что уровень РОУ для зрелых компостов, произведенных на основе твердых бытовых отходов, составляет 4–10 мг C_{орг}/г [20, 22].

Анализ целлюлазной активности показывает, что ее уровень колебался в динамике компостирования (рис. 3). Так, в контрольном варианте максимальную активность наблюдали на 6-е и 13-е сутки компостирования, уровень которой составил 3.94 и 3.2 мг глюкозы/г образца соответственно. В варианте с добавлением бактериального сообщества максимумы активности отмечены на 6-е и 27-е сутки – 4.88 и 5.33 мг глюкозы/г образца соответственно. По истечении

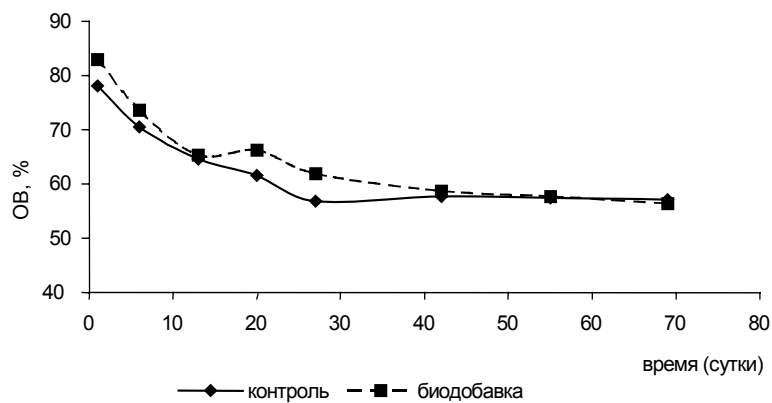


Рис. 1. Изменение содержания органического вещества (ОВ) в течение начального этапа процесса компостирования

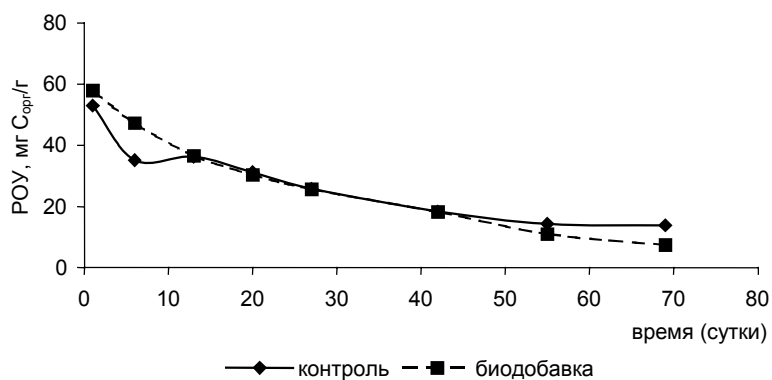


Рис. 2. Изменение содержания растворимого органического углерода в динамике процесса компостирования

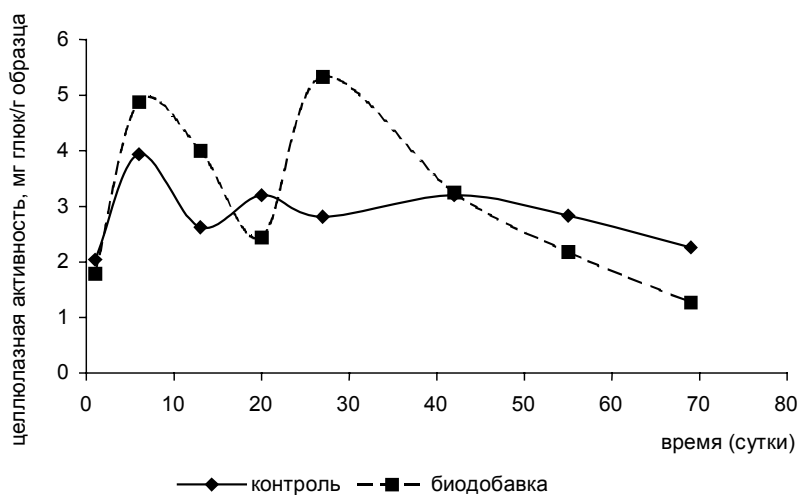


Рис. 3. Изменение целлюлазной активности в динамике процесса компостирования

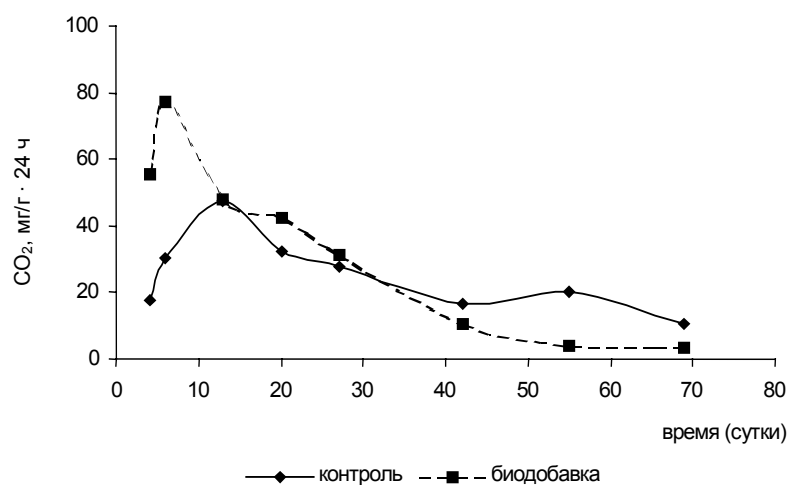


Рис. 4. Изменение респираторной активности в динамике процесса компостирования

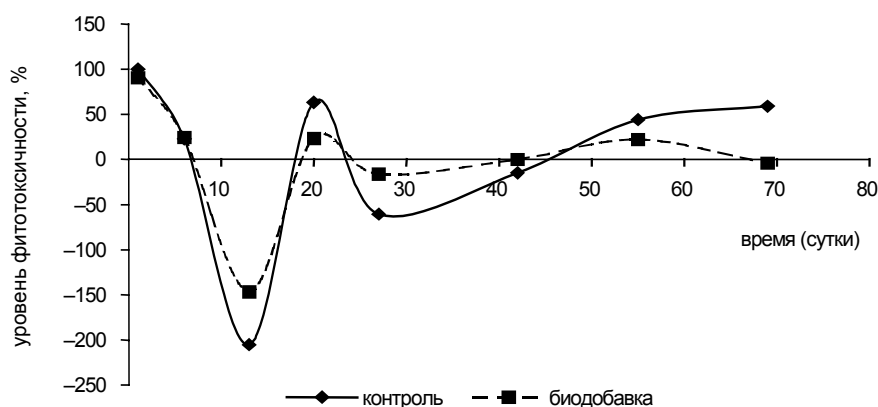


Рис. 5. Изменение фитотоксичности компостируемых смесей в динамике процесса компостирования

42 суток целлюлазная активность в обоих вариантах опыта снижалась, а на 55-е и 69-е сутки микробное сообщество смеси с добавлением бактерий демонстрировало достоверно меньшую целлюлазную активность по сравнению с контрольным вариантом. Скорее всего, такое снижение связано с более быстрым исчерпанием доступного органического вещества, о чем свидетельствует более низкий уровень содержания РОУ в опытном варианте по сравнению с контрольной компостируемой смесью (рис. 2).

Для характеристики процесса компостирования часто используют такой показатель, как респираторная активность микробного сообщества, отражающая его общую активность. Отмечено, что в течение первых 30 суток эксперимента микробное сообщество опытного варианта демонстрировало более высокую респираторную активность по сравнению с контролем. По истечении 42

суток компостирования наблюдалась обратная картина: микробное сообщество контрольной смеси демонстрировало достоверно большую респираторную активность по сравнению с опытным вариантом (рис. 4). Такое изменение активностей может свидетельствовать о том, что бактериальная добавка способствует более быстрой активизации микроорганизмов и более быстрому усвоению субстрата. Снижение содержания органического вещества является причиной снижения общей метаболической активности.

Поскольку одной из целей переработки органической фракции бытовых отходов является последующее их полезное использование в качестве нетрадиционного удобрения, на разных этапах компостирования были отобраны образцы смесей и определена их фитотоксичность (рис. 5). Установлено, что на протяжении 55 суток эксперимента уровень фитотоксичности компостируемых смесей колебался, что, по-видимому, связано с выделением промежуточных продуктов деструкции органического вещества отходов. Одни из этих продуктов вызывают стимуляцию роста используемого тест-объекта, другие – ингибирование. Однако по истечении 55 суток проведения эксперимента уровень фитотоксичности в случае использования биодобавки оказался в 2 раза ниже по сравнению с контролем. Более того, к 70-м суткам компостирования нами установлено, что отходы, компостируемые с использованием бактерий рода *Bacillus*, перестают проявлять фитотоксический эффект. Две причины могут лежать в основе установленного эффекта. Во-первых, известно, что в процессе созревания снижается уровень токсичности компостов, поэтому можно предположить, что степень зрелости компоста с биодобавкой более высокая, а следовательно, более высока и скорость компостирования. Во-вторых, более низкий уровень фитотоксичности может быть связан с тем, что в составе микробного сообщества компоста, приготовленного с биодобавкой, присутствует меньшее количество микромицетов, выделяющих фитотоксины. В свою очередь, их меньшее количество может быть обусловлено антагонистическим эффектом интродуцированных бацилл [12–14].

Таким образом, применение биологической добавки, основанной на сообществе бактерий рода *Bacillus*, ускоряет процесс деградации углеродсодержащих соединений. Более того, компост, полученный с применением биодобавки, уже на 70-е сутки проведения процесса компостирования не проявляет фитотоксического эффекта, что в совокупности свидетельствует о перспективности ее применения.

Summary

S.A. Yarlichenko, S.Yu. Selivanovskaya. Effect of biological supplement on the initial stage of composting of the municipal solid waste on basis of community of bacteria from *Bacillus* genus.

Bacterial community consisted of the bacteria from *Bacillus* genus – *B. cereus*, *B. subtilis* и *B. circulans* is suggested to use as biological supplement to accelerate the initial stage of composting. The dynamics of the change of the main indexes of the composting process is presented. It was demonstrated that the supplement application accelerates the process of mineralization of organic matter and decreases the level of compost phytotoxicity.

Литература

1. Государственный доклад о состоянии окружающей среды РТ в 2005 г. – Казань, 2006. – 235 с.
2. Садовникова Л.К., Орлов Д.С., Лозановская И.Н. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении. – М.: Высш. шк., 2006. – 334 с.
3. Концепция обращения с твердыми бытовыми отходами в Российской Федерации: методическая документация в строительстве МДС 13-8. – М.: Маркетинг, 2000. – 27 с.
4. Adan F., Tambone F., Gotti A. Biostabilization of municipal solid // Waste Management. – 2004. – V. 24. – P. 775–783.
5. Экологическая биотехнология / Под ред. К.Ф. Форстера, Д.А. Дж. Вейза / Пер. с англ. – Л.: Химия, 1990. – 384 с.
6. Norbu T., Visvanathan C., Basnayake B. Pretreatment of municipal solid waste prior to landfilling // Waste Management. – 2005. – V. 79. – P. 98–112.
7. Madejon E., Burgos P., Lopez R., Cabrera F. Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues // Soil. Fertil. Soil. – 2001. – V. 34. – P. 144–150.
8. Основы микробиологии, вирусологии, иммунологии. – М.: Изд. центр «Академия», 2002. – 224 с.
9. Wang P., Chang C.M., Watson M.E., Dick W.A., Chen Y., Hoitink H.A.J. Maturity indices for composted dairy and pig manures // Soil Biology & Biochemistry. – 2004. – V. 36. – P. 767–776.
10. Arkhipchenko I.A., Salkinoja-Salonen M.S., Karyakina J.N., Tsitko I. Study of three fertilizers produced from farm waste // Applied Soil Ecology. – 2005. – V. 36. – P. 126–132.
11. Шлегель Г. Общая микробиология. – М.: Мир, 1987. – 566 с.
12. Ghosh Suman, Kapadnis B.P., Singh N.B. Composting of cellulose hospital solid waste: a potentially novel approach // Internat. Biodeterioration & Biodegradation. – 2000. – V. 45. – P. 89–92.
13. Hassen A., Belguith K., Jedidi N., Cherif A., Cherif M., Boudabous A. Microbiol characterization during composting of municipal solid waste // Bioresource Technology. – 2001. – V. 80. – P. 217–225.
14. Мелентьев А.И., Хелисто П., Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Актуганов Г.Э., Корпела Т. Применение бацилл-антагонистов для биоконтроля грибов, разрушающих сырую древесину // Прикл. биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 1. – С. 70–75.
15. Колешко О.И. Экология микроорганизмов почвы. – Минск: Высшая шк., 1981. – 176 с.
16. Практикум по микробиологии. – М.: Изд. центр «Академия», 2005. – 608 с.
17. Селивановская С.Ю. Система биологических тестов для оценки токсичности объектов окружающей среды: Почва. – Казань.: Изд-во Казан. ун-та, 2001. – 24 с.
18. ГОСТ 26714 – 85 Удобрения органические. Метод определения золы. – М.: Изд-во стандартов, 1997. – 37 с.
19. Ianotti D., Grebus M., Toth B., Madden L., Hoitink H. Oxygen respirometry to assess stability and maturity of composted municipal solid waste // J. of Environmental Quality. – 1994. – V. 23. – P. 1177–1183.
20. Zmora-Nahum S., Markovich O., Tarchitzky J., Chen Y. Dissolved organic carbon as parameter of compost maturity // Soil Biology and Biochemistry. – 2005. – V. 37. – P. 2109–2116.

21. *Fang M., Wong J.W.C., Ma K.K., Wong M.* Co-composting of sewage sludge and coal ash: nutrient transformation // *Bioresource Technology*. – 1999. – V. 67. – P. 19–24.
22. *Chica A., Mohedo J.J., Martin M.A., Martin A.* Determination of the stability of MSW compost using a respirometric technique // *Compost Science and Utilization*. – 2003. – V. 11. – P. 169–175.
23. *Bernal M.P., Paredes C., Sanchez-Monedero M.A., Cegarra J.* Maturity and stability parameters of compost prepared with a wide range of organic wastes // *Bioresource Technology*. – 1998. – V. 63. – P. 91–99.

Поступила в редакцию
22.11.06

Ярлыченко Светлана Александровна – аспирант кафедры прикладной экологии Казанского государственного университета.

Селивановская Светлана Юрьевна – доктор биологических наук, профессор кафедры прикладной экологии Казанского государственного университета.

E-mail: Svetlana.Selivanovskaya@ksu.ru