

О.И. Бахирева, М.С. Федорова, В.Н. Басов

Пермский национальный исследовательский
политехнический университет, Пермь, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ ПРИРОДНЫХ ВОД ОТ ИОНОВ СТРОНЦИЯ В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ

Целью работы является выделение микроорганизмов, способных извлекать ионы стронция из природных вод, содержащих соли жесткости. В ходе работы были выполнены следующие задачи: выделение микроорганизмов, способных поглощать стронций; исследование динамики роста полученной культуры; определение оптимальных условий жизнедеятельности культуры (диапазона устойчивости микроорганизмов к различным концентрациям Sr^{2+} и Ca^{2+}); определение глубины утилизации ионов стронция и кальция из растворов; изучение конкурентоспособности поглощения ионов кальция и стронция.

Для выделения чистых культур брали пробы почвы близ Лебяжьей пещеры и воды из р. Сылвы и скважины для получения питьевой воды в г. Кунгуре Пермского края.

Накопительную и чистую культуры получали, руководствуясь стандартными методиками. В качестве твердой и жидкой питательных сред использовали мясопептонный агар (МПА) и мясопептонный бульон (МПБ) соответственно. В результате получили восемь основных доминирующих культур.

Проверили чувствительность данных микроорганизмов к высоким концентрациям ионов кальция и стронция (от 1 г/л до 100 г/л) диско-диффузионным методом. В некоторых случаях наблюдался активный рост именно вокруг дисков, пропитанных раствором стронция и кальция. На основании полученных данных можно сделать вывод, что полученные микроорганизмы, несомненно, обладают сильной выносливостью, что позволяет надеяться на высокую поглощательную способность выведенных микроорганизмов к ионам кальция и стронция.

Далее исследовали способность микроорганизмов аккумулировать стронций и кальций из растворов и конкурентоспособность их поглощения. Изучение динамики роста выделенных культур показало, что все полученные микроорганизмы в той или иной степени способны поглощать ионы стронция и кальция. Наибольшее количество ионов было поглощено в стационарной фазе роста микроорганизмов.

Анализ данных показывает, что наибольшее количество стронция и кальция было поглощено культурой «Скважина I» в процессе роста клеток. При этом следует отметить, что максимальная сорбционная активность культуры проявляется в отношении ионов кальция, но ненамного больше, чем к ионам стронция. Это можно объяснить тем, что кальций более «привычен» для биологических систем, чем стронций.

Результаты эксперимента показали, что микроорганизмы «Скважины I» можно рассматривать как элемент стадии биологической очистки природных вод от ионов стронция в присутствии солей жесткости.

Ключевые слова: микроорганизмы, стронций, кальций, сорбция, степень поглощения.

O.I. Bakhireva, M.S. Fedorova, V.N. Basov

Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russian Federation

RESEARCH OF THE POSSIBILITY TO PURIFY NATURE WATER FROM STRONTIUM IONS IN THE PRESENCE OF CALCIUM IONS BY SPECIAL CULTURES OF MICROORGANISMS

The purpose of the work is separation of microorganisms capable to extract the strontium ions from water containing salts of acerbity. The following problems were concerned in the course of work: separating microorganisms capable to absorb strontium; studying dynamics of the cultures growing; determining of optimum conditions to vital activity of the culture (the range of microorganisms stability to different concentration Sr^{2+} and Ca^{2+}); determining the depth to salvaging strontium and calcium ions from solution; the study of competitive absorption of calcium and strontium ions.

For isolation of pure cultures we took the tests of soil near Icy cave and water tests from r. Sylva and bore holes of drinking water in Kungur. Enrichment and pure cultures were obtained by standard techniques. As solid and liquid mediums we use beef-extract agar-agar and beef-extract broth, respectively. As a result we get eight major dominant cultures.

We test the sensitivity of these microorganisms to high concentrations of calcium and strontium (1 g / l to 100 g / l) by disk diffusion test. On the basis of these data, we can conclude that these microorganisms are very tolerant, what take hope for a high absorption ability of microorganisms to ions of calcium and strontium.

Hereinafter the abilities of microorganisms to adsorb strontium and calcium ions from solution and competitiveness of absorption was researched. The initial concentration of strontium and calcium ions is 20 and 60 mg/l accordingly.

The study of growing dynamics of the cultures has shown that all microorganisms are capable to absorb strontium and calcium ions. The highest amount of ions were absorbed in the stationary phase of the growing microorganisms. The analysis of data shows that largest amount of strontium and calcium ions were absorbed by culture «Pochva I» in the process of cell growing. It should be noted that maximum sorption activity of the culture reveals in respect to calcium ions. It can be explained by the fact that calcium is more «accustomed» to biological systems, than strontium.

The results of the experiment have shown that microorganisms «Pochva I» can be considered as a biosorbent in purification of natural water from strontium ions in the presence of acerbity salts.

Keywords: *microorganisms, strontium, calcium, sorption, the extent of absorption.*

Уральский регион в настоящее время представляет собой высококоразвитый агропромышленный комплекс. Он испытывает на себе самые разнообразные по генезису химические воздействия. В 2008 г. было проведено обследование водозаборов Верхнекамского полигона, которое подтвердило высокоопасное загрязнение стронцием на Сухореченском месторождении подземных вод (Кунгурский р-н), связанное с подтягиванием некондиционных вод. Система водоснабжения г. Кунгура на 70 % обеспечивается водой из Сухореченской скважины. Содержание стронция в пластовых подошвенных водах Сухореченского водозабора колеблется от 215,5 до 307,8 мг/л. По результатам анализа проб кунгурской рапы, вскрытой при бурении скважин 736, 738, 784, содержание в ней стронция составляет 10,2–20,4 мг/л. Таким образом, химанализ воды Сухореченского водозабора соответствует требованиям СанПиН 2.1.4.1074–01 на питьевую воду, кроме содержания иона стронция, так как предельно допустимая концентрация стронция по Пермскому краю – 7 мг/л. В данный момент идет реконструкция Сухореченского водозабора, в ходе которой предусмотрено ввести очистку подземной воды от ионов стронция [1].

Будучи близок к кальцию по химическим свойствам, стронций резко отличается от него по своему биологическому действию. Хотя соли и соединения стронция относятся к малотоксичным веществам,

однако при его избытке поражается костная ткань, печень и мозг. Избыточное содержание этого элемента в почвах, водах и продуктах питания вызывает «уровскую болезнь» у человека и животных – поражение и деформацию суставов, задержку роста и другие нарушения [2].

В процессе исследования осуществлены попытки применения микробиологического метода для извлечения ионов стронция. Они заключаются в выделении культур микроорганизмов, способных поглощать стронций. Подобные попытки осуществлялись ранее в работах [3–6].

Для выделения чистых культур брали пробы почвы близ Ледяной пещеры и воды из р. Сылвы и скважины для получения питьевой воды в г. Кунгуре Пермского края. В данных местах отмечено высокое содержание ионов кальция и стронция, также в данном районе находятся месторождения таких минералов, как гипс, кальцит, целестин и др. Таким образом, повышенное содержание данных ионов обеспечивает среду, в которой возможно существование микроорганизмов, поглощающих ионы кальция и стронция.

Накопительную и чистую культуры получали, руководствуясь стандартными методиками [7]. В качестве твердой и жидкой питательных сред использовали мясопептонный агар (МПА) и мясопептонный бульон (МПБ) соответственно. В результате получили восемь основных доминирующих культур, обладающих следующими морфологическими признаками (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Морфологические признаки микроорганизмов

Культура	Оптические свойства	Цвет	Форма	Поверхность	Профиль	Край
«Почва I»	Полупрозрачные, матовые	Белый	Круглая	Гладкая	Вросший в агар	Ровный
«Почва II»	Блестящие	Желтый	Круглая	Гладкая	Выпуклый	Ровный
«Почва III»	Непрозрачные	Белый	Круглая	Гладкая	Вросший в агар	Волнистый
«Скважина I»	Блестящие	Светло-желтый	Круглая	Гладкая	Выпуклый	Ровный
«Скважина II»	Блестящие	Ярко-желтый	Круглая	Гладкая	Выпуклый	Гладкий
«Скважина III»	Блестящие	Оранжевый	Круглая	Гладкая	Выпуклый	Гладкий
«Сылва I»	Полупрозрачные, матовые	Белый	Круглая	Гладкая	Выпуклый	Неровный
«Сылва II»	Блестящие, прозрачные	Желтый	Круглая	Гладкая	Выпуклый	Гладкий

Проверка чувствительности полученных микроорганизмов к высоким концентрациям ионов кальция и стронция (от 1 до 100 г/л) диско-диффузионным методом показала, что все полученные микроорганизмы обладают крайне низкой чувствительностью к присутствию данных ионов. Так, даже при концентрации 100 г/л во всех случаях по каждому иону происходило полное зарастание плотной питательной среды. В случаях культур «Почва I», «Скважина I», «Сылва I», «Скважина III» наблюдался активный рост именно вокруг дисков, пропитанных раствором стронция и кальция.

Исследование способности микроорганизмов аккумулировать ионы стронция и кальция проводилось с исходными концентрациями ионов стронция и кальция в растворах 20 и 60 мг/л соответственно. Культивирование вели на орбитальных шейкерах при $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ и $V = 180 \text{ об/мин}$ в течение 3 сут, прирост биомассы фиксировали на КФК-2 при $\lambda = 590 \text{ нм}$. Измерение остаточной концентрации стронция осуществляли на атомно-абсорбционном спектрофотометре (ААС) Thermo iCE 3500 (рис. 1).

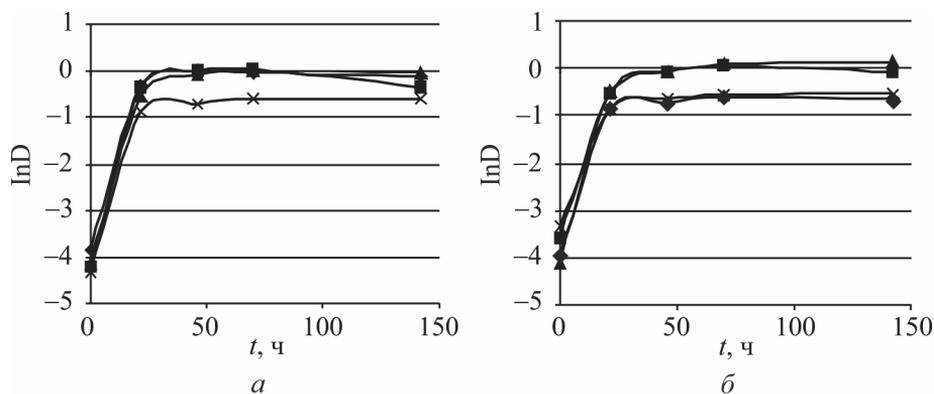


Рис. 1. Кривые роста микроорганизмов в присутствии ионов стронция и кальция: *а* – динамика роста микроорганизмов в присутствии ионов стронция; *б* – динамика роста микроорганизмов в присутствии ионов кальция; \blacklozenge – «Скважина I»; \blacksquare – «Почва I»; \blacktriangle – «Сылва I»; \times – «Скважина III»

Изучение динамики роста выделенных культур показало, что все полученные микроорганизмы способны поглощать ионы стронция и кальция. Наибольшее количество ионов было поглощено в конце стационарной фазы роста микроорганизмов. Изменение степени поглощения ионов стронция и ионов кальция во времени происходит в соответствии с рис. 2.

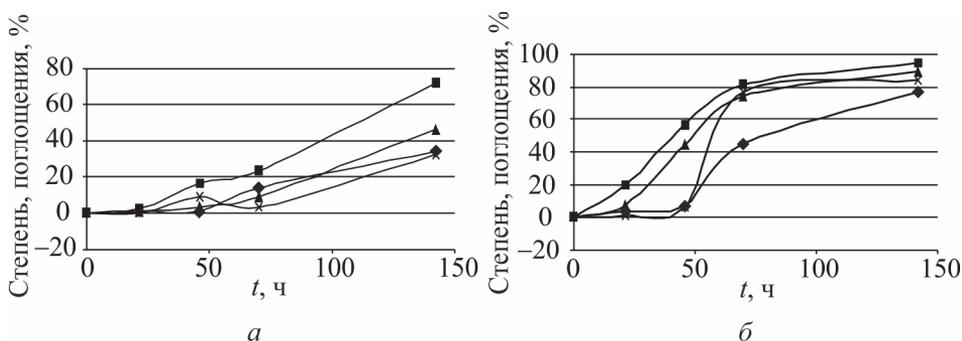


Рис. 2. Зависимость степени поглощения ионов стронция и кальция от времени культивирования: *a* – зависимость степени поглощения ионов стронция от времени культивирования; *б* – зависимость степени поглощения ионов кальция от времени культивирования; ◆ – «Скважина I»; ■ – «Почва I»; ▲ – «Сылва I»; × – «Скважина III»

Как видно из рис. 2, *a*, наилучшая степень поглощения стронция была у культуры «Почва I» и составила 71,74 %. Степень извлечения кальция данными культурами была велика и составляла 76–94 % (рис. 2, *б*). Сравнение степени извлечения ионов кальция и стронция показывает, что кальция поглощается больше в 1,3–2,6 раз.

Конкурентоспособность поглощения ионов стронция и кальция изучали из растворов с исходной концентрацией ионов стронция и кальция 0,001н:0,01н; 0,001н:0,03н; 0,001н:0,05н; 0,001н:0,1н, т.е. соотношения стронция и кальция составили 1:10, 1:30, 1:50, 1:100.

В результате были получены следующие кривые роста культур (рис. 3).

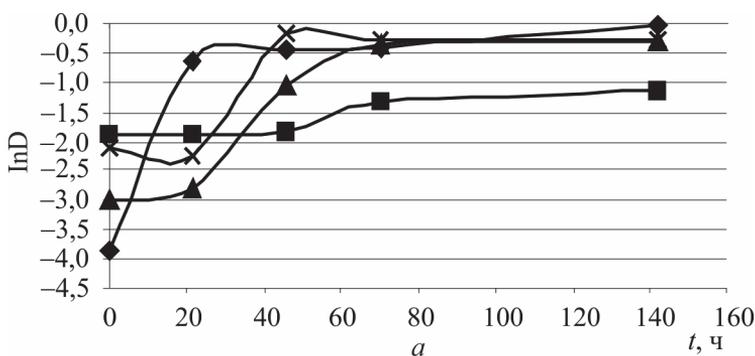


Рис. 3. Динамика роста культур микроорганизмов при различных соотношениях ионов стронция и кальция: *a* – динамика роста культуры «Скважина I»; *б* – динамика роста культуры «Почва I»; *в* – динамика роста культуры «Сылва I»; *г* – динамика роста культуры «Скважина III»: ◆ – 1:10; ■ – 1:30; ▲ – 1:50; × – 1:100

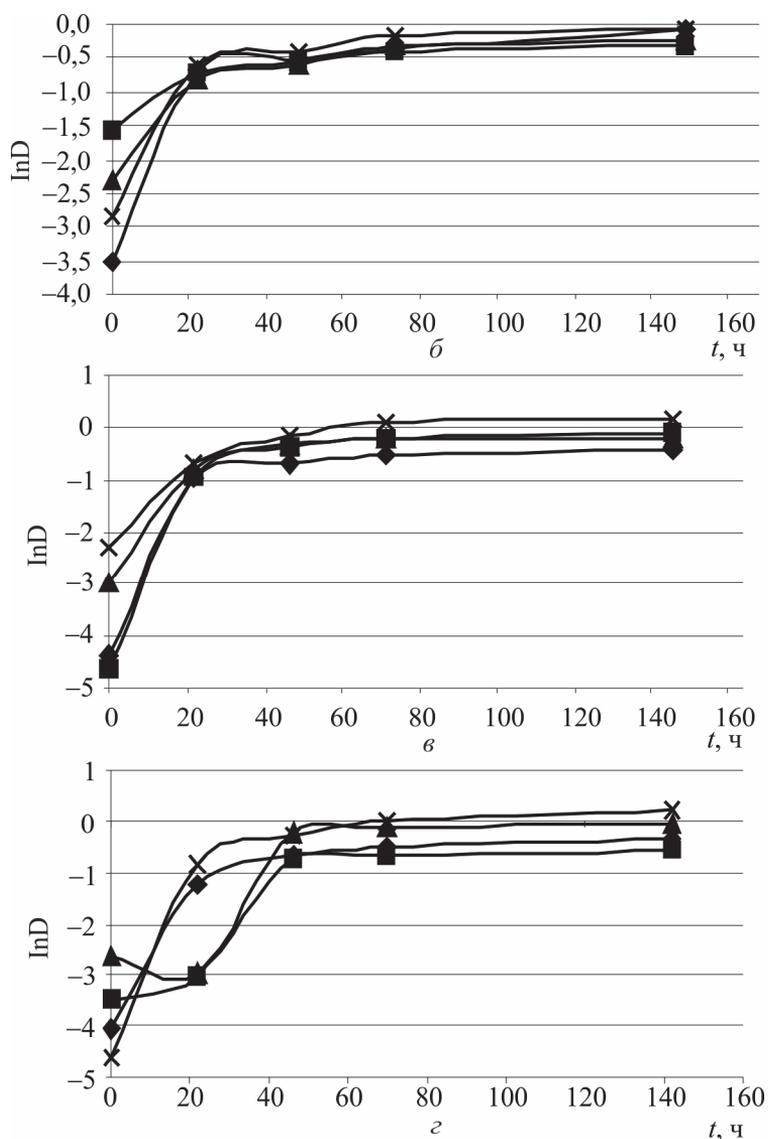


Рис. 3. Окончание

При изучении динамики роста микроорганизмов было обнаружено, что при изменении соотношения ионов стронция и кальция изменяется продолжительность лаг-периода роста культуры (табл. 2).

При сравнительной оценке степени поглощения ионов кальция и стронция при различных их соотношениях можно отметить, что степень поглощения стронция превышает степень поглощения кальция при соотношении 1:10 культурами «Почва I», «Сылва I» и «Скважина III» и при соотношении 1:30 – культурой «Почва I». Во всех остальных случаях степень поглощения кальция превышает степень поглощения

стронция. Однако стоит отметить, что максимальную степень поглощения стронция проявляет культура «Скважина I» при соотношениях 1:10 и 1:100, а также культура «Сылва I» при соотношениях 1:30 и 1:50. Следовательно, поглощение ионов стронция в присутствии ионов кальция увеличивается.

Таблица 2

Сравнительная оценка степени поглощения ионов кальция и стронция при их различных соотношениях

Состояние	Степень поглощения стронция				Степень поглощения кальция			
	«Скважина I»	«Почва I»	«Сылва I»	«Скважина III»	«Скважина I»	«Почва I»	«Сылва I»	«Скважина III»
1:10	86,12	65,16	81,03	75,11	98,83	37,84	61,65	48,34
1:30	81,40	45,70	93,99	6,58	89,15	20,99	96,39	34,63
1:50	37,53	33,32	71,19	46,02	45,51	35,72	92,23	84,08
1:100	43,81	10,34	13,991	11,32	49,03	36,76	68,26	33,54

Таким образом, были исследованы культуры микроорганизмов, которые могут производить очистку природных и сточных вод от ионов стронция при различных соотношениях ионов кальция и стронция в воде.

Аккумуляция полученными культурами ионов стронция и кальция имеет сложный механизм. При этом наибольшей селективностью по отношению к ионам стронция обладают культуры «Почва I», «Скважина I» и «Сылва I» при различных соотношениях ионов стронция и кальция.

Список литературы

1. Сорбционное извлечение стронция из морской воды / В.А. Авраменко, В.В. Железнов, Е.В. Каплун, Т.А. Сокольницкая, А.А. Юхам // Радиохимия. – 2001. – Т. 43, № 4. – С. 381–384.
2. Буракаева А.Д., Русанов А.М., Лантух В.П. Роль микроорганизмов в очистке сточных вод от тяжелых металлов. – Оренбург: Изд-во Оренб. гос. ун-та, 1999. – 53 с.
3. Синтез и использование сорбционных материалов на основе вермикулита и микроорганизмов для извлечения стронция / О.И. Бахирева, Л.С. Пан, В.В. Вольхин, О.В. Белякова, М.С. Федорова // Химическая технология и биотехнология. – 2010. – № 11. – С. 150–157.
4. Синтез сорбционных материалов на основе вермикулита и микроорганизмов для извлечения ионов и радионуклидов стронция / В.Н. Басов, О.И. Бахирева, В.В. Вольхин, Л.С. Пан // Научно-технический вестник Поволжья. – 2012. – № 2. – С. 48–52.

5. Biosorption of cesium-137 and strontium-90 by mucilaginous seeds of *Ocimum basilicum* / Dipjyoti Chakraborty, Samir Maji, Abhijit Bandyopadhyay, Sukalyan Basu // *Bioresource Technology*. – 2007. – Vol. 98. – P. 2949–2952.

6. Removal of ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr from actual low level radioactive waste solutions using moss as a phyto-sorbent / M.V. Balarama Krishna, S.V. Rao, J. Arunachalam, M.S. Murali, Surendra Kumar, V.K. Manchanda // *Separation and Purification Technology*. – 2004. – Vol. 38. – P. 149–161.

7. Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976.

References

1. Avramenka V.A., Zheleznov V.V., Kaplun E.V., Sokolnitskaya T.A., Yuhkam A.A. Sorbtsionnoe izvlechenie stronsiya iz morskoy vody [Sorption extraction of strontium from sea water]. *Radiokhimiya*, 2001, vol. 43, no. 4, pp. 381–384.

2. Burakaeva A.D., Rusanov A.M., Lantukh V.P. Rol mikroorganizmov v ochestke stochnykh vod ot tyazhelykh metallov [The role of microorganisms in wastewater treatment from heavy metals]. Orenburg: Orenburgskiy gosudarstvennyy universitet, 1999, 53 p.

3. Bakhireva O.I., Pan L.S., Volkhin V.V., Belyakova O.V., Fedorova M.S. Sintez i ispolzovanie sorbtsionnykh materialov na osnove vermikulita i mikroorganizmov dlya izvlecheniya stronsiya [Synthesis and use of sorption materials based on vermiculite and microorganisms for extracting of strontium ions]. *Khimicheskaya tekhnologiya i biotekhnologiya*, 2010, no 11, pp. 150–157.

4. Basov V.N., Bakhireva O.I., Volkhin V.V., Pan L.S. Sintez i ispolzovanie sorbtsionnykh materialov na osnove vermikulita i mikroorganizmov dlya izvlecheniya ionov i radionuklidov stronsiya [Synthesis of sorption materials based on vermiculite and microorganisms to extract the strontium ions]. *Nauchno-tekhnicheskii vestnik Povolzhya*. 2012, no. 2, pp. 48–52.

5. Dipjyoti Chakraborty, Samir Maji, Abhijit Bandyopadhyay, Sukalyan Basu. Biosorption of cesium-137 and strontium-90 by mucilaginous seeds of *Ocimum basilicum*. *Bioresource Technology*, 2007, vol. 98, pp. 2949–2952.

6. Balarama Krishna M.V., Rao S.V., Arunachalam J., Murali M.S., Kumar Surendra, Manchanda V.K. Removal of ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr from actual low level radioactive waste solutions using moss as a phyto-sorbent. *Separation and Purification Technology*, 2004, vol. 38, pp. 149–161.

7. Egorov N.S. Praktikum po mикробиологии [Workshop on microbiology]. Moscow: Moskovskiy universitet, 1976.

Получено 15.06.2013

Об авторах

Бахирева Ольга Ивановна (Пермь, Россия) – кандидат химических наук, доцент кафедры химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: bahirevy@mail.ru).

Федорова Мария Сергеевна (Пермь, Россия) – магистрант кафедры химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: lady.quake@yandex.ru).

Басов Вадим Наумович (Пермь, Россия) – доктор химических наук, профессор кафедры химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: basov81@mail.ru).

About the authors

Bakhireva Olga Ivanovna (Perm, Russian Federation) – Ph.D. of Chemical Science, Associate Professor, Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990, Russian Federation; e-mail: bahirevy@mail.ru).

Fedorova Mariya Sergeevna (Perm, Russian Federation) – Master Student, Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990, Russian Federation; e-mail: lady.quake@yandex.ru).

Basov Vadim Naumovich (Perm, Russian Federation) – Doctor of Chemical Science, Professor, Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990, Russian Federation; e-mail: basov81@mail.ru).