УДК: 579.695

Микробиологический анализ активного ила очистных сооружений Монди СЛПК

Е.В. Красильникова, Н.Н. Шергина

Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, г. Сыктывкар

В целлюлозно-бумажной промышленности микроорганизмы используются на различных стадиях производства, где играют определяющую роль в процессе биологической очистки сточных вод [1, 2]. Спецификой сточных вод является большое разнообразие состава органических и минеральных веществ. Эта особенность и определяет специфику качественного и количественного распределения отдельных групп микроорганизмов [3]. В настоящее время метод очистки сточных вод с помощью активного ила (АИ) является наиболее универсальным и широко применяемым при обработке стоков.

Организмы ила обладают способностью реагировать на состав и свойства очищаемых сточных вод, а также на условия жизнеобеспечения, гарантируемые конструкцией и регулируемые режимом эксплуатации сооружений. Поэтому для характеристики работы сооружений биологической очистки существенное значение имеет микробиологический анализ АИ. Однако в настоящее время ни один из существующих методов не позволяет быстро проводить непрерывный количественный контроль состава микробиоты АИ, и предсказывать различные неконтролируемые изменения в биоценозах АИ [3].

Данные исследования позволяют расширить знания о эколого-трофических группах микроорганизмов в активном иле аэротенка и отстойника очистных сооружений Монди СЛПК.

Производственные сточные воды ОАО «Монди СЛПК» включают несколько потоков: загрязненные стоки производственных цехов и хозяйственно-бытовые стоки комбината. Каждый поток имеет специфический состав загрязнений, и подвергается собственной локальной очистке на комбинате. На станции биологической очистки (СБО) сточных вод «Монди СЛПК» находятся в эксплуатации 8 аэротенков. Вторичные отстойники — последняя стадия биологической очистки, на которой происходит осветление (отделение) ила от воды. Отделенный ил направляется вновь на аэротенки, для очищения сточных вод.

Целью работы было изучение эколого-трофической структуры микробиоты очистных сооружений Сыктывкарского лесопромышленного комплекса на основе численности микроорганизмов активного ила аэротенка и отстойников.

Материалом для изучения микробиоты очистных сооружений послужили пробы осветлённой воды с активном илом из аэротенка и биологически очищенная вода из вторичного отстойника СБО АО «Монди СЛПК». Пробы для анализа отбирали из аэротенков в ноябре и

декабре 2016 года и в мае 2017 года, из отстойника - в ноябре и декабре 2016 года. Пробы отбирали зачерпыванием воды из верхнего слоя ковшом на длинной ручке. Объем каждой пробы составлял 0,7-1,5 л.

Отобранные пробы разводили в стерильной дистиллированной воде, используя десятикратные последовательные разведения (1:10, 1:100, 1:1000 т. д.), и высевали на агаризованные питательные среды в трехкратной повторности для каждого параллельного разведения. Для определения численности эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭКТГМ) использовали шесть вариантов питательных сред: МПА (мясопептонный агар), среда Эшби, ГА (голодный агар), среда Гетчинсона, КАА (крахмало-аммиачный агар), АИА (агар из активного ила) [4]. Для изучения некультивируемых форм микроорганизмов готовили временные препараты для исследования с помощью микроскопа.

Засеянные чашки Петри термостатировали при температуре 25°С в течение 7 суток, затем проводили подсчёт изолированных колоний микроорганизмов при помощи прибора для счета колоний Schuett-biotec count и изучение культурально-морфологических признаков колоний.

Расчёт КОЕ проводили по формуле:

$N = (\sum КОЕ) / ((a + 0,1 \cdot b) \cdot 10^{-n})$,

где N – количество микроорганизмов, КОЕ / мл;

$\sum$ КОЕ - сумма количества колоний микроорганизмов, подсчитанных на чашках в двух параллельных разведениях;

a –количество чашек в первом взятом разведении;

b – количество чашек во втором разведении;

0,1 – объем инокулята, вносимого при посеве, мл;

n – соответствует степени наименьшего из двух разведений.

Идентификацию микроорганизмов проводили при помощи Определителя Берджи [5].

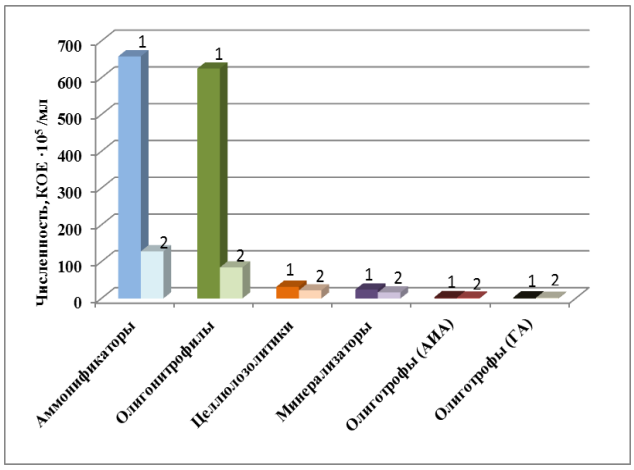
Нами была определена численность эколого-трофических групп микроорганизмов в пробах очистных сооружений Монди СЛПК, отобранных из аэротенков и отстойника. Полученные данные по численности микроорганизмов приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Численность микроорганизмов в сточной воде очистных сооружений «Монди СЛПК», КОЕ·10^5 /мл

ЭКТГМ	Целлюлозолитики	Минерализаторы	Олигонитрофилы	Аммонификаторы	Олиготрофы (ГА)	Олиготрофы (АИА)
Аэротенк						
ноябрь	31,8	24,2	624,9	658,2	2,9	3,5
декабрь	49,3	755,8	604,2	2139,4	3939,4	142,8
май*		38,4	2,4	4,3	6,5	
Отстойник						
ноябрь	22,1	16,4	84,2	128,2	1,9	2,3
декабрь	13,0	132,7	117,9	16,0	13,6	30,8

* данные по численности ЭКТГМ за май приведены в КОЕ·10^9 /мл

Из данных таблицы 1 видно, что численность микроорганизмов различных эколого-трофических групп сильно варьирует в зависимости от эколого-трофической группы, от места и времени отбора пробы. Показано, что численность культивируемых микроорганизмов различных эколого-трофических групп в очистных сооружениях Монди СЛПК варьирует в широких пределах от 2,9·10^5 КОЕ/мл до 3,8·10^{10} КОЕ/мл в аэротенках и от 1,9·10^5 КОЕ/мл до 1,3·10^7 КОЕ/мл в отстойнике. Отмечается высокая численность аммонификаторов и олигонитрофилов в ноябрьских пробах; аммонификаторов и олиготрофов, выросших на голодном агаре – в декабрьских пробах из аэротенка, небольшим числом представлены олиготрофы, выросшие на голодном агаре и агаре из активного ила. Количество микроорганизмов, встречающихся в очищенной воде в отстойнике, значительно ниже, чем в аэротенке, что свидетельствует об интенсивности процессов минерализации органического вещества в аэротенках.

А 

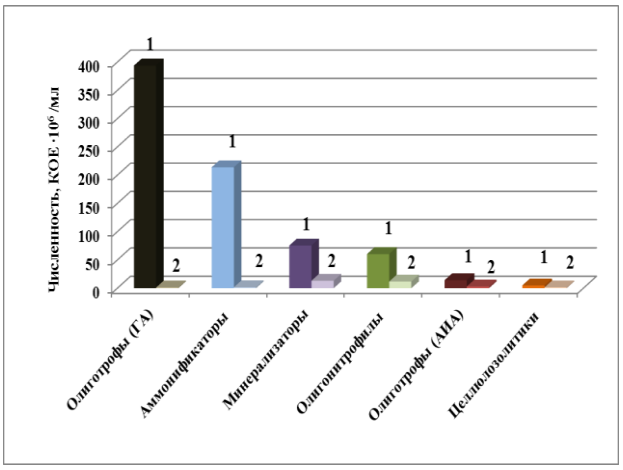
Б 

Рисунок 1 – Структура микробных сообществ активного ила аэротенков и отстойников: А-ноябрь 2016 года, Б – декабрь 2016 года; 1 – аэротенк, 2 - отстойник.

Следует отметить, что в декабрьских пробах из очистных сооружений по сравнению с ноябрьскими кроме увеличения численности ЭКТГМ, изменяется структура микробиоты, что выражается в смене доминантных групп микроорганизмов: лидирующее место по численности занимают олиготрофы (ГА), которые в ноябре характеризовались незначительным количеством (рисунок 1). Это, вероятно, связано с изменившимся составом сточных вод. Состав поступающих на очистку сточных вод оказывает значительное влияние на состав микробиоты очистных сооружений, на это указывает ряд авторов [1, 6, 7]. Он является определяющим для развития различных ЭКТГМ, которые используют растворенные в сточной воде вещества для получения энергии и синтезов клеточных веществ. Мы считаем, что смена доминантов в структуре микробоценоза активного ила обусловлена технологией переменной подачи хозяйственно-бытовых стоков, сбросов Зеленецкой птицефабрики и промышленных стоков Монди СЛПК. Изменения в структуре доминирующих эколого-трофических групп микроорганизмов в сточной воде аэротенка и отстойника указывают на активность процессов, протекающих при очистке сточных вод.

Наблюдается тенденция к увеличению численности микробиоты аэротенка с ноября по май, что вероятно, связано с установкой новой системы аэрации, которая активизировала процессы окисления органических веществ микроорганизмами.

Нами были исследованы сточная вода аэротенков на наличие индикаторных микроорганизмов, которые некультивируются на питательных средах. Наиболее развиты в составе активного ила кругоресничные инфузории класса Peretricha, постоянные члены биоценоза активного ила сточных вод. Были обнаружены прикрепленные перитрихи из родов *Epistylis* и *Vorticella*, их присутствие характерно для зрелых илов с хорошо сформированными хлопьями активного ила (рисунок 2).

А Б

Рисунок 2 – Прикрепленная инфузория р. *Epistylis* (А), инфузория р. *Vorticella* (Б), Ув.10*40.

Присутствие этих инфузорий в активном иле очистных сооружений является признаком протекания нитрификационных процессов и достаточно полной очистки сточных вод, а так же небольшой недогрузки ила [6].

В составе активного ила также были обнаружены *Zoogloea ramigera*; *Sphaerotilus natans*; флоулообразователи из р. *Bacillus*, целлюлозолитические бактерии р. *Cellulomonas*.

Основная роль в образовании полисахаридов в составе хлопьев активного ила и в формировании самой способности хлопьеобразованию принадлежит покрытой капсулой грамотрицательной палочковидной бактерии *Zoogloea ramigera,* которая способна окислять различные органические вещества. Эти бактерии способны расти в широком температурном диапазоне. Нитчатые бактерии, среди которых наиболее часто встречается *Sphaerotilus natans,* также окисляют многочисленные органические соединения, но они часто являются причиной плохого осаждения ила в отстойнике и образования устойчивой пены в аэротенке из-за формирования флокул. Причиной развития данного вида бактерий – поступление на очистку сточных вод, содержащих высококонцентрированной смеси органических загрязняющих веществ, при коротком времени контакта их с активным илом [7].

Немаловажную роль во флокулообразовании играют бактерии р. *Bacillus*. Очень важное значение имеет группа целлюлозоразлагающих бактерий р. *Cellulomonas*. Эти микроорганизмы разлагают целлюлозное волокно, поступающее в аэротенк вместе со сточными водам. Наиболее интенсивно разрушение протекает при pH 7,5 – 8,0, снижение pH до 5,0 почти полностью приостанавливает деятельность бактерий - целлюлолитиков.

Таким образом, использование численности различных ЭКТГМ и биологических индикаторов для оценки работы биохимических очистных сооружений позволяет не только очень быстро получить ответ о состоянии сооружения, но нередко и указать на причины, вызывающие нарушение нормальной его работы.

Список литературы

1. Зайцева, И.С. Методы интенсификации биологической очистки сточных вод в аэротенках [Текст]/ И.С. Зайцева, Н.А. Зайцева, А.С. Воронина «Вестник Кузбасского государственного технического университета»./ - 2010. № 2. - 90 с.

2. Кузнецов, А.Е. Прикладная экобиотехнология [Текст]: учебное пособие / А.Е. Кузнецов [и др.], - 2 – е изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 57-63 с.

3. Жмур, Н.С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками [Текст]/ Н.С. Жмур – М.:АКВАРОС, 2003. – 512 с.

4. Нетрусов, А.И., Практикум по микробиологии [Текст] / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. Под редакцией Нетрусова А.И.– М.: Академия, 2005. – 572-575 с.

5. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.: Пер.с англ./ Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – 432 с.

6. Захватаева, Н.В. Активный ил как управляемая экологическая система [Текст]/ Н.В. Захватаева, А.С. Шеломков; под ред. д.т.н., проф. Пупырева Е.И. – М.: «Экспо-Медиа-Пресс», 2013. – 288 с.

7. Никитина, О.Г., Биоэстимация: контроль и регулирование процессов биологической очистки и самоочищения воды [Текст]: автореф. дис. канд. биол.наук / О.Г.Никитина. – Москва, 2012. – 47с.