

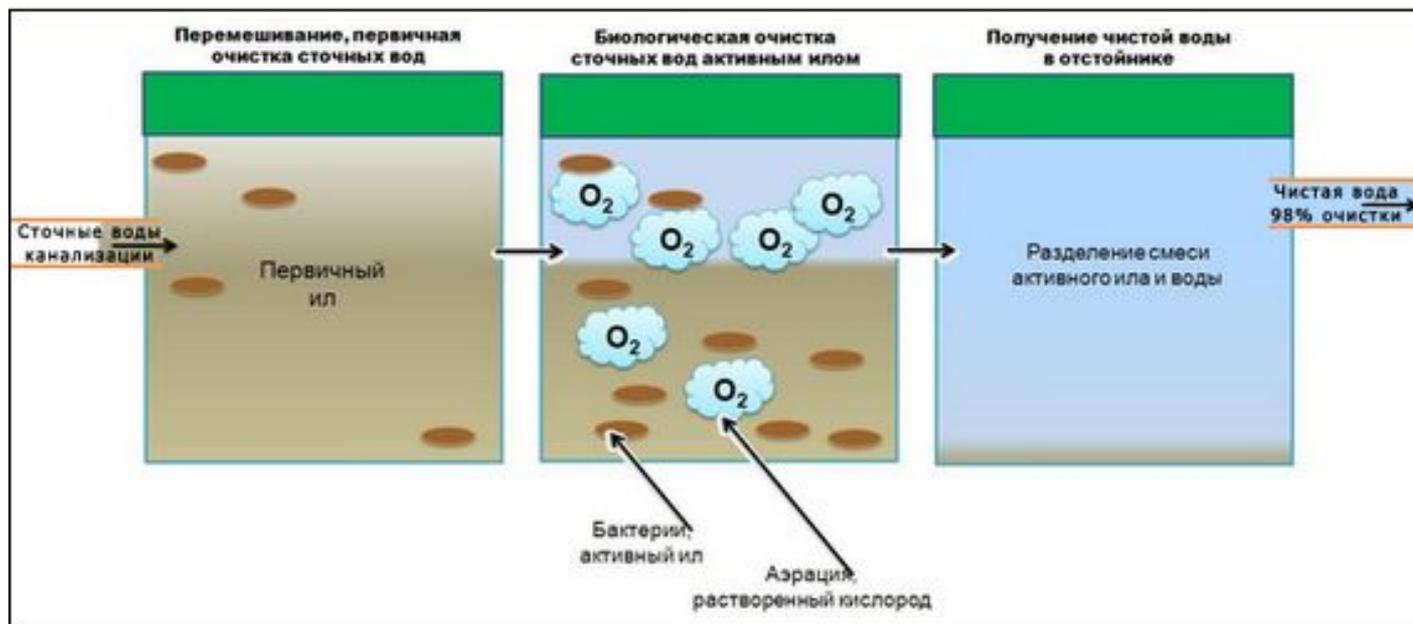
Биотехнология очистки промышленных отходов

Лекция

Характеристика и состав микробиоты активного ила и био пленки

• **Характеристика активного ила**

- **Активный ил** - это хлопья коричнево-бурого цвета, состоящие в основном из бактериальных клеток, на поверхности которых и между ними находятся разнообразные простейшие организмы.
- Источником питания и энергии для жизнедеятельности организмов активного ила служат органические загрязняющие вещества, поступающие со сточной водой.
- Сухое вещество активного ила на 70–90% состоит из органических веществ и на 10–30% – из минеральных.
- Благодаря аэрации хлопья активного ила поддерживаются во взвешенном состоянии.



- Рисунок 1. Очистка сточных вод активным илом.
- <http://tehros.ru/informaciya/princip-raboty-avtonomnoj-kanalizac/prostyimi-slovami/>

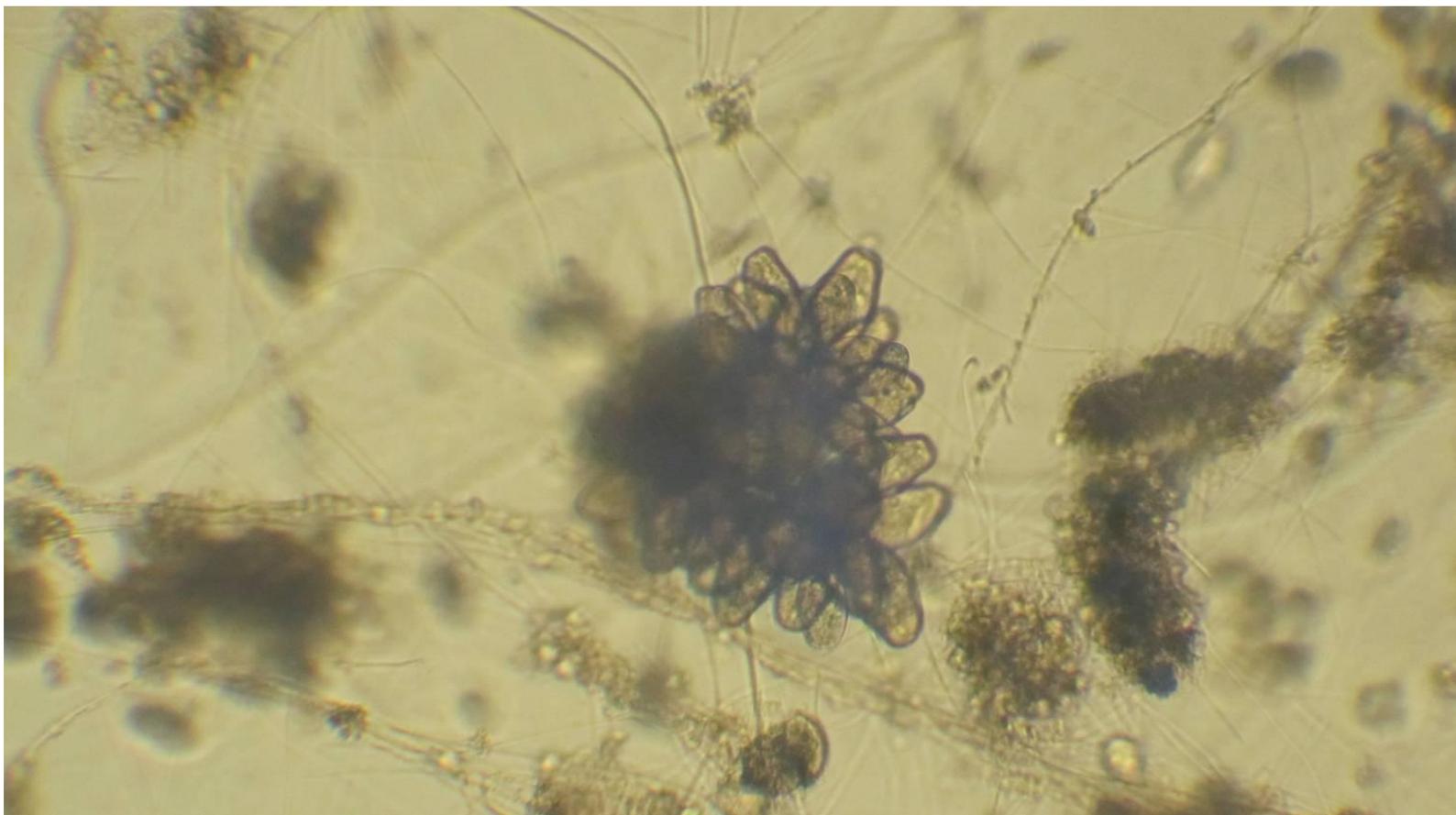
- Источником питания и энергии для жизнедеятельности организмов активного ила служат органические загрязняющие вещества, поступающие со сточной водой.
- Микроорганизмы активного ила с помощью выделяемых ими ферментов окисляют, расщепляют эти загрязнения в присутствии кислорода до простых неорганических соединений, в конечном счете, до воды и углекислого газа.
- Часть органических веществ идет на построение новых клеток микроорганизмов, другая часть используется в процессах жизнедеятельности.

- **Стадии биодеградация загрязнений в аэробных условиях:**
- **1. Сорбция загрязняющих веществ на поверхности хлопьев активного ила.** Через несколько минут контакта сточной воды с иловой смесью концентрация загрязнений в воде существенно снижается. Начинается процесс окисления легкоразлагающихся органических веществ.
- **2. Поступление веществ внутрь клеток** (диффузия, активный транспорт, фагоцитоз). Макромолекулы расщепляются экзоферментами, секретируемыми клетками. Твердые частицы загрязнений (органические вещества) расщепляются экзоферментами либо потребляются простейшими.
- **3) Окисление загрязняющих веществ,** распавшиеся на более короткие молекулы, эндоферментами внутри клетки. Превращение азота аммонийного в нитриты и нитраты.

- **Биоценоз активного ила аэротенков.**

- Все организмы, обитающие в аэротенке, попадают в него **из внешних источников**: вместе со **сточной водой**, из почвы и воздуха, заносятся насекомыми.
- В условиях аэротенка происходит **селекция микроорганизмов**, т. е. преимущественное развитие одних видов, которые находят для себя благоприятные условия, и подавление других.
- Факторами, определяющими направление селекции, являются аэрация, состав загрязнений, температура, скорость роста, и др.
- Численность микроорганизмов составляет 10^{10} – 10^{11} клеток/мл.

- При аэробной очистке сточных вод протекают **два наиболее важных микробиологических процесса:**
- 1) **окисление органического углерода**
- 2) **нитрификация**
- Для работы активного ила наиболее важно присутствие **трех основных групп бактерий:**
- 1) **углеродоокисляющих флокуллообразующих,** участвующих в образовании хлопьев, для их быстрого осаждения в отстойнике с образованием плотного ила;
- 2) **углеродоокисляющих нитчатых,** обеспечивающих формирование «скелета» вокруг которого образуются флоккулы, нитчатые формы также являются активными окислителями органических веществ.
- 3) **нитрификаторов,** превращающих аммонийный азот в нитриты и нитраты.



- Рисунок 2. Хлопья активного ила под микроскопом.
- <http://www.kraskom.com/press/news/2277/>

- **Флокулообразующие бактерии,** окисляющие органические соединения, относятся к родам: *Actinomyces*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, *Desulfotomaculum*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Sarcina* и др.

- Основная роль в формировании **способности** активного ила к **хлопьеобразованию** принадлежит бактерии *Zoogloea ramigera*, близкой к псевдомонадам. Они способны разлагать широкий спектр загрязнений в сточной воде. Образуют мощную полисахаридную капсулу. В сточной воде *Z. ramigera* образует аморфные массы полисахарида, в которой находятся колонии этой бактерии в виде разветвленного деревца.



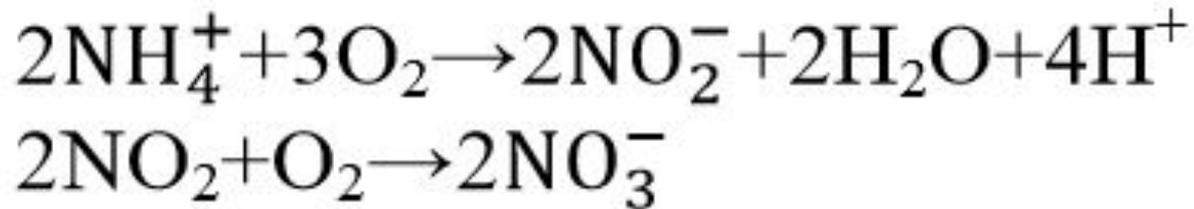
Клетки *Z. ramigera* обнаруживаются также в сильно загрязненных пресноводных водоемах, где образуют взвешенные в воде хлопья или слизистые обрастания (зооглеи) на находящихся в воде предметах.

Рисунок 3. Клетки *Zoogloea ramigera* под микроскопом
https://microbewiki.kenyon.edu/images/a/a2/Zoogloea_ramigera.jpg

- Капсульное вещество играет значительную роль в очистке, может адсорбировать:
- 1) различные органические вещества;
- 2) неорганические ионы;
- 3) клетки бактерий, которые сами не способны к хлопьеобразованию, но участвуют в разложении загрязнений.
- Представители зооглей способны к внутриклеточному образованию гранул полифосфатов, поэтому представляют интерес для очистки воды от фосфор содержащих веществ.

- В активном иле многочисленны бактерии рода *Pseudomonas* (до 80% от численности бактерий активного ила). Они способны окислять различные спирты, жирные кислоты, парафины, ароматические углеводороды, углеводы и др.
- Бактерии из рода *Bacillus* окисляют алифатические углеводороды.
- Бактерии рода *Brevibacterium* окисляют различные компоненты нефти, парафины, нафтены, фенолы, альдегиды, жирные кислоты.
- Целлюлозоразрушающие бактерии родов *Cellulomonas* и *Cellulovibrio*.

- При *нитрификации* микроорганизмы – нитрификаторы окисляют аммиак до нитритов и нитратов:
- 1) Нитрификаторы (*Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*) окисляют аммиак до нитритов;
- 2) Затем другая группа нитрификаторов (*Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*) окисляет нитриты до нитратов.
- Общую скорость реакции стадия окисления аммиака.



- Большинство нитрифицирующих бактерий являются автотрофами, их рост угнетается в присутствии органических веществ.
- Гетеротрофные бактерии - нитрификаторы медленно растут и не могут конкурировать с остальными гетеротрофами за субстрат и кислород.
- Пока в сточной воде присутствуют органические вещества, аммиак потребляется гетеротрофами. После того как органические вещества минерализуются, начинают развиваться бактерии - нитрификаторы.
- Их появление в очищаемой воде свидетельствует о минерализации основной части органических веществ.
- Это позволяет использовать нитрифицирующие бактерии в качестве индикаторов процесса очистки.

- В активном иле практически всегда присутствуют **актиномицеты** (рода *Gordonia*, *Rhodococcus*). Из-за присутствия актиномицетов активный ил обладает землистым запахом.
- В составе активного ила обнаруживается **множество бактерий, не культивируемых в лабораторных условиях**. Только около 5 % микробиоты активного ила известны в настоящее время и выделены в чистую культуру.
- С использованием молекулярно-биологических методов показано наличие представителей *Paracoccus*, *Nuromicrobium*, *Aeromonas*, *Cytophaga* и других.

- Основными группами **нитчатых бактерий**, обнаруживаемых в составе активного ила являются *Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, *Thiotrix*.
- Нитчатые бактерии более устойчивы к токсикантам, недостатку кислорода, могут развиваться в воде с большим содержанием органических веществ, поэтому **массовое развитие их происходит при нарушениях процесса очистки.**
- Массовое развитие нитчатых форм бактерий приводит к плохому осадению иловой смеси, образованию устойчивой пены.
- **Нитчатые хламидобактерии** рода *Sphaerotilus* наиболее часто встречаются в активном иле. Состоят из тонких нитей, одетых слизистым защитным чехлом, имеют ложное ветвление.

- Способностью формировать длинные **нити** обладают бесцветные **серные бактерии** (родов *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Leucothrix* и др.).
- **Массовое развитие серобактерий** наблюдается в активном иле аэротенков, работающих с высокими нагрузками по загрязнению, при недостатке кислорода в иловой смеси, при наличии в сточных водах токсичных веществ (медь, цинк и т. д.), при очистке сточных вод, содержащих восстановленные соединения серы.

- В активном иле присутствуют **фототрофные цианобактерии** (*Cyanobacterium*), которые переходят к гетеротрофному питанию. Это приводит к утрате ими пигментов, и клетки цианобактерий становятся бесцветными. Во вторичных отстойниках клетки цианобактерий могут приобретать зеленую окраску, а в местах сильного освещения – типичную сине-зеленую.
- Наиболее часто встречаются **цианобактерии** родов *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Osillatoria*.
- Цианобактерии устойчивы к воздействию неблагоприятных факторов среды, а также токсикантов, они могут достигать значительной численности в активном иле аэротенков и **вызывать вспухание**. Они вызывают и «цветение» водоемов.

- В составе активного ила могут быть обнаружены **грибы**, развитию которых способствует кислая реакция среды, хотя число их и незначительно: *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* и другие. Источником их попадания считают почву, воздух, сточные воды.

- **Вспухание активного ила в аэротенках.**
- **Вспухание активного ила** - это реакция биоценоза на неблагоприятные экологические условия.
- **Нитчатое вспухание** вызывают организмы нитчатого строения (бактерии, водоросли, грибы). При большом количестве поступающих легкоокисляемых органических веществ, активный ил их сорбирует, но не успевает быстро окислять. Возникает недостаток кислорода в иловой смеси, бактерии-гетеротрофы заменяются более устойчивыми нитчатыми бактериями (*Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, *Thiotrix* и др.).
- При этом нарушаются флокуляционные свойства, осаждение активного ила, происходит его вынос из вторичных отстойников. Это приводит к ухудшению качества очищенных сточных вод.

Цианобактерии, хламидобактерии и серобактерии – важные индикаторные организмы активного ила, их чрезмерное развитие вызывает его вспухание.

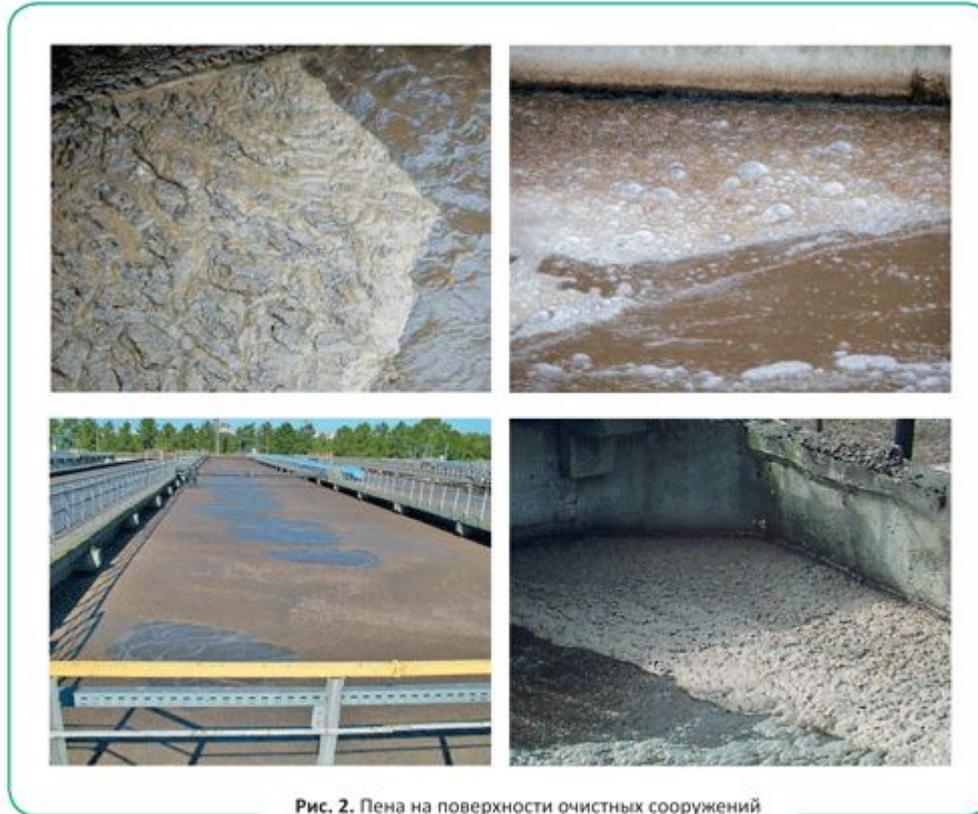
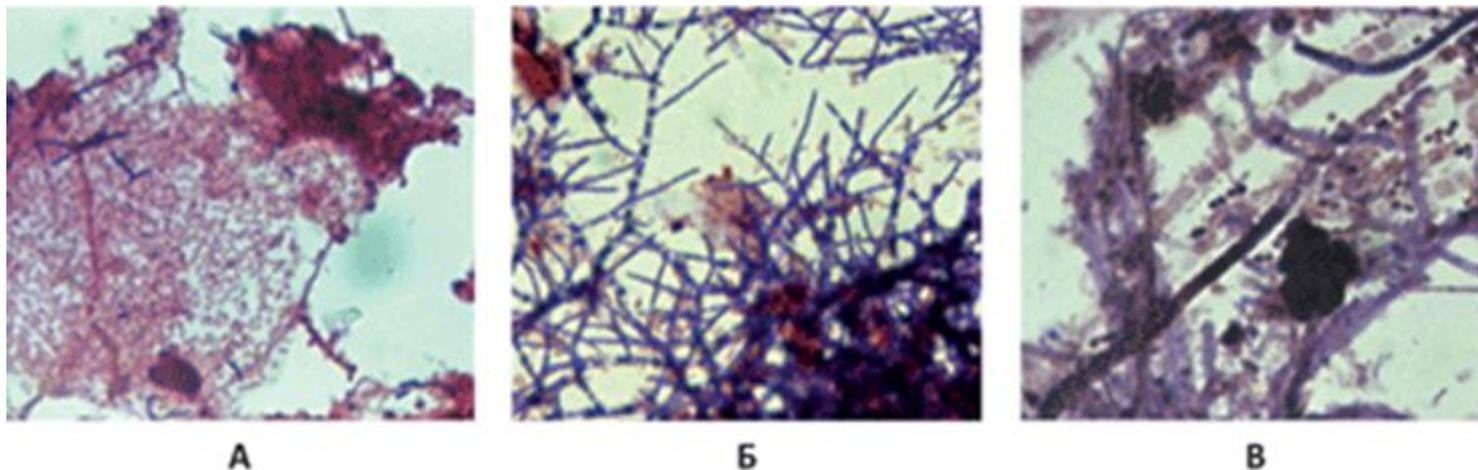


Рис. 2. Пена на поверхности очистных сооружений при развитии процессов пенообразования

- Рисунок 4. Вспухание активного ила
http://www.profiz.ru/eco/2_2015/stoch_ochistka//



- Рисунок 5. Различные состояния активного ила: А – хороший активный ил, Б – вспухший активный ил, В – пена.
- http://www.profiz.ru/eco/2_2015/stoch_ochistka/

- В биоценозах аэротенков **простейшие** составляют около 0,5-1% от массы активного ила. Они представлены четырьмя основными группами.
- 1) Саркодовые (*Sarcodina*): амебы (*Amoeba limax*, *Amoeba proteus*), раковинные амебы (родов *Arcella*, *Centropyxis*), голые амебы (род *Pelomyxa*).
- 2) Жгутиковые (*Mastigophora*, *Flagellata*): бесцветные жгутиконосцы (родов *Bodo*, *Peranema*).
- 3) Ресничные инфузории (*Ciliata*): свободноплавающие (родов *Colpidium*, *Oxytricha*, *Paramecium*), брюхоресничные (*Aspidisca*), одиночные прикрепленные (сувойки *Vorticella*), колониальные прикрепленные (родов *Epistylis*, *Opercularia*).
- 4) Сосущие инфузории (*Suctoria*): *Acineta*, *Podophrya*, *Tokophrya*.

- **Простейшие, наряду с коловратками, водными клещами и нематодами, поедая одиночные плавающие бактерии, обеспечивают:**
 - 1) снижение мутности стоков,
 - 2) разрыхление ила;
 - 3) повышение эффективности водоочистки;
 - 4) регулируют видовой и возрастной состав микроорганизмов, поддерживая его на оптимальном уровне.
- За сутки одна инфузория пропускает через свой организм от 20 до 40 тыс. бактерий.
- Простейшие участвуют в удалении нефлокулированных, отмирающих микроорганизмов, а также патогенных.

- **Многоклеточные беспозвоночные организмы**
(Metazoa):
- 1) коловратки (*Rotifera*),
- 2) брюхоресничные черви (*Gastrotricha*),
- 3) первичнополостные черви (*Nematoda*),
- 4) малощетинковые черви (*Oligochaeta*),
- 5) тихоходки (*Tardigrada*),
- 6) представители класса паукообразные (*Arachnida*).

Биоиндикаторы	Краткая характеристика условий развития
<i>Дисперсные бактерии</i>	Сточные воды, нарушающие хлопьеобразование (фенолсодержащие и др.), высокое содержание токсикантов
<i>Zoogloea</i>	Устойчивы к высоким нагрузкам по БПК, недостатку кислорода, к сточным водам, дисбалансированным по элементам питания
<i>Нитчатые бактерии</i>	Устойчивы к высокому содержанию водорастворимой легкоокисляемой органики, низкому содержанию кислорода
<i>Нитчатые тионовые бактерии</i>	Устойчивы к недостатку кислорода, продуктам гниения, к сточным водам, дисбалансированным по элементам питания, к воздействию токсикантов

Биоиндикаторы	Краткая характеристика условий развития
<i>Бактерии в хлопьях ила</i>	Обеспечивают высокое качество очистки, чувствительны к воздействию токсикантов, недостатку кислорода
<i>Грибы</i>	Появляются в илах с высоким разнообразием видов и устойчивостью к неблагоприятным воздействиям. Характеризуют хорошую степень очистки с глубокой нитрификацией. Устойчивы к кислым сточным водам

Биоиндикаторы	Краткая характеристика условий развития
<i>Амебы</i>	Устойчивы к высоким нагрузкам по БПК, недостатку кислорода. Мелкие раковинные амебы обильно развиваются при диспергировании хлопьев.
<i>Инфузории</i>	<p><i>Свободноплавающие</i> устойчивы к недостатку кислорода, плохому перемешиванию ила, его залежам и гниению, перегрузкам по легкоокисляемой органике.</p> <p><i>Прикрепленные</i> чувствительны к недостатку кислорода, перегрузкам, плохому перемешиванию иловой смеси и воздействию токсикантов, показатели хорошего качества очистки.</p> <p><i>Сосущие</i> – показатели высокого качества очистки с нитрификацией.</p>

Биоиндикаторы	Краткая характеристика условий развития
<i>Коловратки</i>	Широкая экологическая пластичность, отдельные виды устойчивы к резким колебаниям рН, чувствительные к недостатку кислорода. Хищные коловратки характеризуют высокое качество очистки, развитый процесс нитрификации, хорошие условия аэрации, удовлетворительную минерализацию ила
<i>Нематоды</i>	Высокая экологическая пластичность, некоторые виды нечувствительны к недостатку кислорода, показатели минерализации хлопьев ила, при этом могут значительно увеличивать численность
<i>Малощетинковые и брюхо-хоресничные черви</i>	Показатели высокого качества очистки с нитрификацией

- **Микроорганизмы биофильтров**
- В составе биофильтров клетки микроорганизмов находятся в неподвижном состоянии и прикреплены к поверхности пористого носителя. Клетки микроорганизмов образуют слизистую **био пленку**, растущую на поверхности насадки и имеющую большую площадь поверхности.
- **Био пленка** - это слизистый матрикс на поверхности носителя, состоящий преимущественно из полисахаридов, которые удерживают в пределах единой структуры клетки микроорганизмов.
- Насадка обеспечивает пористость для прохождения воздуха и жидкости.
- Толщина био пленки может составлять от 200 мкм до 1 мм.

- **Пропускная способность биофильтра** определяется площадью поверхности, занятой биопленкой, и возможностью свободного доступа кислорода воздуха к ней.
- Биоценозы биопленки используют органические вещества сточных вод в качестве источника питания и энергии. Из сточной жидкости удаляются органические вещества и увеличивается масса активной биопленки.

- На формирование биопленки оказывают влияние :
- 1) факторы среды (концентрация и состав загрязнений, рН, температура, гидродинамический режим). Состав органической части загрязнений определяет видовой состав микроорганизмов и соотношение между отдельными группами;
- 2) свойства материала загрузки (структура, удельная площадь поверхности, пористость, конфигурация и размеры пор и др.);
- 3) свойства микроорганизмов (поверхностные характеристики клеток – гидрофобность, заряд, способность продуцировать полимеры и др.).

- **Микробиологический состав биопленки.**
- По сравнению с аэротенками концентрация микроорганизмов в биофильтрах выше более чем в 10 раз и составляет 10 - 60 г беззольного вещества биомассы на 1 дм³.
- С очищаемой водой контактирует только верхний поверхностный слой биопленки.
- В верхних слоях находятся наиболее активные клетки микроорганизмов, во внутренних слоях происходят анаэробные процессы.

- Так как в перколяционных фильтрах жидкость стекает вертикально, возникают градиенты концентрации загрязняющих веществ и содержания кислорода вдоль вертикального профиля сооружения.
- В верхних горизонтах выше концентрация питательных веществ, но дефицит кислорода. Здесь потребляются легко усвояемые компоненты загрязнений, происходит аммонификация. Наиболее сильно прирастает биопленка, окисляются органические вещества. Здесь живут микроорганизмы, обитающие в наиболее загрязненной воде.
- По мере прохождения сточной воды через фильтр снижается количество загрязнений, развивается нитрификация.
- В нижней части биофильтра содержание загрязнений низкое, а кислорода высокое. Там развиваются микроорганизмы, потребляющие оторвавшуюся от носителя биопленку.

- В биопленке встречаются **бактерии, грибы, вирусы, простейшие, водоросли, членистоногие.** Состав микроорганизмов в биопленке разнообразнее, чем в активном иле. Преобладают микроорганизмы, способные к колонизации поверхности носителя.
- Встречаются представители родов *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, энтеробактерии, коринеформные бактерии, микрококки.
- В верхних слоях развиваются *Zoogloea ramigera*.
- Могут развиваться нитчатые бактерии *S. natans*.

- Содержание **грибов** в составе биопленки составляет до **30%**. Преобладают грибы родов *Fusarium*, *Geotrichum*, *Sporotrichum*, *Penicillium*, *Trichoderma* и др.
- *Fusarium* лучше развиваются в верхней части, *Geotrichum* – в глубине биофильтра.
- Обильное развитие грибов приводит к заполнению отверстий между загрузочным материалом, в результате чего ухудшаются условия аэрации, снижается скорость потока жидкости.
- Развитие грибов считается основным отличием микробиоты активного ила и биопленки.

- В нижних слоях биофильтра скапливается много простейших. Преобладают брюхоресничные инфузории, сувойки.
- В верхних слоях развиваются организмы, устойчивые к дефициту кислорода: *Paramecium putrium*, *P. caudatum*. Их появление в сточной воде на выходе из биофильтра вместе с возрастанием численности бактерий и ионов NH_4^+ - показатель плохой работы биофильтра.
- В пленке биофильтра развиваются рачки, черви, личинки, насекомые, клещи. Питаются простейшими, способствуют очистке сточных вод.
- Большой вынос червей с биофильтра – показатель накопления пленки в каком-то участке, что может вызвать заиливание фильтра.

- На освещенных участках биопленки могут развиваться **водоросли и цианобактерии**. Протококковые водоросли могут переходить от автотрофного питания к гетеротрофному.
- Водоросли на свету, потребляя CO_2 и выделяя O_2 , могут обеспечить потребность бактерий в O_2 .
- Водоросли могут утилизировать фосфор. Используют для глубокого удаления биогенных элементов.

- Биоценоз аэротенков и биофильтров характеризуется разным количественным соотношением отдельных групп микроорганизмов: в биопленке биофильтра **значительно выше доля анаэробных микроорганизмов, чем в аэротенке (до 25%)**.
- При чрезмерном разрастании грибов и нитчатых бактерий может произойти заиливание биофильтра. Для предотвращения прекращают подачу сточной воды и перемешивают слои фильтра.
- При культивировании изолированных из биопленки микроорганизмов в жидкой среде в условиях аэрации формируются хлопья, напоминающие активный ил.