

УДК 628.355 + 579.233

О. В. Нестер, ассист.; Р. М. Маркевич, доц., канд. хим. наук;
Е. Ю. Боженкова, студ. (БГТУ, г. Минск)

СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ АКТИВНОГО ИЛА, СПОСОБСТВУЮЩИХ ЕГО ГРАНУЛИРОВАНИЮ

Стадия биологической очистки сточных вод применяется практически на всех очистных сооружениях. Процесс биологической очистки осуществляется сообществом микроорганизмов (активным илом), которое формируется в очистном сооружении (аэротенке, биореакторе и т.д.) в зависимости от конкретных условий: состава сточных вод, уровня аэрации, конструкции сооружения и др. В состав активного ила входят бактерии, грибы, водоросли, простейшие, многоклеточные организмы.

Основную роль в процессе биологической очистки сточных вод отводят бактериям активного ила, задача которых заключается в первичной трансформации и разложении растворенных органических веществ и в разложении взвешенных органических веществ за счет образования внеклеточных ферментов. Флокулообразующие гетеротрофные бактерии составляют до 90 % от общего количества бактерий активного ила. Роль их заключается в образовании внеклеточных полимеров, способствующих сорбции органических и неорганических соединений, а также клеток не способных к хлопьеобразованию.

Деструкция органических соединений осуществляется быстрее в системах, где микроорганизмы собраны в компактные структуры (хлопки, биопленка, гранулы), такие агрегаты в 10-100 раз устойчивее к неблагоприятным факторам среды [1, 2]. Авторы [3] основную роль в агрегировании микроорганизмов отводят полисахаридам.

Ранее нами был проведен скрининг бактериальных штаммов по способности к образованию полисахаридов (капсулы, слизи, запасные вещества) и показано, что добавление культуральной жидкости полисахаридсинтезирующих бактерий, выделенных из активного ила очистных сооружений молочного производства, способствует стимуляции гранулирования активного ила [4].

Исходя из вышесказанного, основной целью исследовательской работы стало изучение свойств полисахаридсинтезирующих бактерий, выделенных из активного ила очистных сооружений молочного производства, и подбор оптимальных условий их культивирования (рН питательной среды, температура и время культивирования) для

наибольшего накопления экзополисахаридов. Скрининг бактерий осуществляли по способности культур к агрегированию (образованию биопленок, хлопков, флокул, гранул) в аэробных условиях. В результате из 41 выделенного только 21 изолят показал способность к образованию агрегатов. У бактерий, проявивших способность к агрегированию, предварительно изучили основные морфологические (окраска по Граму, способность к спороношению, размер клеток), культуральные признаки (подвижность, характер скоплений, форма и размер колоний) и физиолого-биохимические свойства (каталазная, оксидазная, протеолитическая активности, отношение к молекулярному кислороду).

Идентификацию выделенных изолятов проводили в институте биоорганической химии г. Минска методом масс-спектрометрического профилирования рибосомальных белков микроорганизмов, находящихся в экспоненциальной фазе роста. Данные получали с использованием масс-спектрометра высокого разрешения с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI) microflex LRF MALDI-TOF (Bruker Daltonics). После обработки данные анализировали с использованием системы управления базами данных BioType идентификации микроорганизмов. Полученные результаты представлены в таблице.

В результате изучения физиолого-биохимических свойств штаммов бактерий установили, что по отношению к кислороду большинство из них являются факультативно-анаэробными, за исключением *Pseudomonas putida* M21, *Glutamicibacter protophormiae*, ИЛ 1, которые проявили себя как аэротолерантные бактерии.

При инкубировании на синтетических средах изоляты ИЛ 1 и ИЛ 3 не росли ни с одним источником углеводов и из дальнейших экспериментов эти бактерии исключили.

Для определения максимального выхода экзополисахаридов культивирование штаммов бактерий осуществляли в аэробных условиях в синтетической среде и в питательном бульоне, со значением pH среды в диапазоне 4,5–9,0, температура инкубирования от 20 до 40 °C с шагом 5 °C, время инкубирования 7 сут. Концентрацию экзополисахаридов определяли фенол-сернокислым методом.

Из графиков динамики накопления экзополисахаридов представленных на рисунке видно, что наибольшее количество экзополисахаридов образуется на 2–3 сут инкубирования и дальнейшее культивирование бактерий проводить не целесообразно.

Таблица – Характеристика штаммов бактерий

Название	Окраска по Граму	Наличие эндоспор	Наличие капсул	Форма и размер клеток	Подвижность	Ферментативная активность				
						Амилолитическая	Протеолитическая (казеин/желатин)	Липолитическая	Катазная	Оксидазная
<i>Rhodococcus erythropolis</i> M19	+	-	+	Изогнутые палочки, 3,5 × 1,1 мкм	-	-	+/-	-	++++	-
<i>Pseudomonas putida</i> M21	-	-	+	Палочки, 1,3 × 0,4 мкм	+	-	+/-	+	+++	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i> M22	+	-	+	Палочки, 2,0 × 0,9 мкм	-	-	+/-	-	++++	-
<i>Paenarthrobacter ilicis</i> M23	+	-	+	Изогнутые палочки, 1,2 × 0,5 мкм	-	-	+/-	-	++++	-
<i>Glutamicibacter protophormiae</i>	+	-	+	Кокки, диплококки, Ø 1,0 мкм	-	-	+/-	-	+++	-
<i>Glutamicibacter protophormiae</i>	+	-	+	Кокки, диплококки, Ø 1,0 мкм	-	-	+/-	-	+	-
<i>Glutamicibacter protophormiae</i> M29	+	-	+	Кокки, диплококки, Ø 1,0 мкм	-	-	-	-	+++	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i> M31	+	-	-	Изогнутые палочки, 3,5 × 0,5 мкм	-	-	-	-	++++	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i> M32	+	-	-	Палочки, 1,8 × 0,3 мкм	+	-	-	-	+++	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i> M33	+	-	+	Палочки, 3,0 × 0,7 мкм	-	-	-	-	+++	-
<i>Microbacterium liquefaciens</i> M36	-	-	-	Палочки, 1,0 × 0,3 мкм	-	-	-/+	-	+++	-
ИЛ 1 (не идентифицировали)	-	-	-	Палочка, 2,0 × 0,5 мкм	-	-	-/+	-	+	-
ИЛ 3(не идентифицировали)	+	-	+	Нити, 27,0 × 1,0 мкм	-	-	+/-	+	+	-
<i>Corynebacterium callunae</i> M40	+	-	+	Кокки, Ø 1,0 мкм	-	-	-	-	+	-
<i>Corynebacterium testudinoris</i> M41	+	-	-	Палочки, 1,5 × 1,0 мкм	-	-	-	-	+++	-
<i>Citrobacter freundii</i> M4	-	-	+	Палочки, 2,5 × 0,5 мкм	+	-	-	-	-	-
<i>Weissella halotolerans</i> M42	-	-	+	Кокки, Ø 1,5 мкм	-	+	+/+	+	-	-
<i>Raoultella ornithinolytica</i> M6	-	-	+	Палочки, 2,5 × 0,5 мкм	-	+	-/+	-	++	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i> M17	+	-	+	Изогнутые палочки, 7,0 × 1,0 мкм	-	-	-	+	++++	-
<i>Bacillus cereus</i> M18	+	+	-	Палочки, 4,0 × 1,5 мкм	-	-	+/+	+	+	-
<i>Raoultella ornithinolytica</i> M14	-	-	+	Кокки, Ø 1,0 мкм	-	+	-	-	+	-