

УДК 628.355

**И. П. Лемзикова**, аспирант; **Р. М. Маркевич**, кандидат химических наук, доцент**ПОТРЕБЛЕНИЕ ФОСФАТОВ ИЗ СРЕДЫ БАКТЕРИЯМИ АКТИВНОГО ИЛА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ АЭРАЦИИ**

Для бактерий, выделенных из активного ила, оценена способность к потреблению фосфатов из среды. Отобран изолят, который характеризовался самым высоким уровнем накопления фосфора в клетках. Показано, что наиболее эффективное потребление фосфатов из среды в расчете на единицу биомассы происходит при инкубировании бактерий поочередно в аэробных условиях, в условиях без аэрации и с последующей аэрацией. Изучено влияние длительности стадии инкубирования без аэрации на потребление фосфатов.

The ability to consume phosphates from the medium has been assessed for bacteria isolated from activated sludge. There was selected an isolate, which cells has the highest level of phosphorus accumulation. It is shown that the most efficient consumption of phosphates from the medium per biomass unit is reached while incubating bacteria alternately under aerobic conditions and the conditions without aeration followed by the aerobiosis. The effect of the duration of the incubation stage without aeration on phosphates consumption has been studied.

**Введение.** В связи с возрастанием содержания в городских сточных водах соединений азота и фосфора и обострением проблемы эвтрофикации водоемов произошла смена приоритетов в подходе к очистке сточных вод. В настоящее время основным видом загрязнений, подлежащих удалению, считаются биогенные элементы – азот и фосфор. Разработано большое количество технологических схем для удаления азота и фосфора, основанных на чередовании зон с разным уровнем аэрации (аэробных, анаэробных, анаэробных). Существование различных модификаций этих схем обусловлено проблематичностью обеспечения условий для совместной эффективной очистки сточных вод от азота и фосфора.

Проблемой является создание зоны строгого анаэробноаэробия из-за неблагоприятных отношений  $N_{\text{общ}}/\text{БПК}$  и  $P/\text{БПК}$ , предлагаются варианты схем без предварительного первичного отстаивания, с ацидификацией осадка в первичных отстойниках, с размещением загрузки в анаэробной зоне для удержания микроорганизмов, осуществляющих брожение. Для эффективного удаления фосфора необходимо увеличение отведения избыточного ила, в то время как для обеспечения нитрификации возраст ила должен быть не менее 5 суток. В активном иле содержатся не только аэробные и анаэробные бактерии, но и представители аэробной микрофауны, для которых длительное пребывание без кислорода является губительным.

Оптимальные условия для развития фосфораккумулялирующих бактерий в активном иле не установлены. Имеются несистематизированные данные о влиянии pH, некоторых компонентов среды на поглощение фосфатов бактериями. Так, было установлено, что накопление волютина клетками активного ила усиливается

при подщелачивании кислых сточных вод, на некоторых этапах очистки сточных вод наблюдалось повышение количества клеток с волютином в микроаэрофильных условиях [1]. Отдельным видам бактерий, в частности *Brevibacterium casei*, для удаления фосфатов из среды необходимо присутствие ионов  $Mg^{2+}$ ,  $NH_4^+$  и  $\alpha$ -кетоглутарата [2].

Цель нашей работы заключалась в изучении потребления фосфатов из среды при различных условиях аэрации бактериями, выделенными из активного ила очистных сооружений. При инкубировании бактерий менялся порядок чередования аэробных условий и условий без аэрации, а также продолжительность стадии без аэрации.

**Основная часть.** Для выделения чистых культур бактерий, способных к накоплению фосфора, использовали иловую смесь из аэротенков очистных сооружений городов: Минск, Могилев, Бобруйск, Малорита, Постава, Кленовичи, Боровка и др. С целью гомогенизации иловой смеси проводили ультразвуковую обработку при частоте 22 кГц в течение 30 с.

Первичное установление фосфораккумулялирующей способности бактерий, выделенных из активного ила, осуществляли окрашиванием гранул волютина в клетках метиленовым синим по Леффлеру с последующим микроскопированием препаратов. Цитоплазма окрашивалась в голубой цвет, а зерна волютина приобретали фиолетово-красное окрашивание.

Для отбора изолятов с наиболее выраженной способностью к накоплению фосфора инкубировали суточную культуру в питательном бульоне, чередуя условия аэрации: аэробноаэробно, анаэробноаэробно. По разности содержания фосфатов в исходной среде и после каждой стадии инкубирования рассчитывали количество поглощенного

фосфора на единицу сухой биомассы. Для дальнейших исследований выбраны изоляты II и IV, которые характеризовались самым высоким уровнем накопления фосфора в клетках.

Изучение потребления фосфора выделенными бактериями проводили в соответствии с приведенной схемой (рис. 1). В питательный бульон вносили суточную культуру бактерий и проводили инкубацию в шейкере-инкубаторе ES-20 (200 об./мин). В первой серии экспериментов при инкубировании чередовали условия аэрации (аэробная стадия, стадия без аэрации, аэробная стадия, длительность инкубирования на каждой стадии составляла 2 ч), во второй серии инкубирование начинали со стадии без аэрации и меняли продолжительность этой стадии (1, 2 или 3 ч). После каждой стадии инкубирования бактериальную массу отделяли центрифугированием при 8000 об./мин в течение 20 мин. Осадок высушивали при температуре 105°C и взвешивали. В супернатанте устанавливали содержание фосфора фосфатного колориметрическим методом. К 1 см<sup>3</sup> исследуемого раствора добавляли 1 см<sup>3</sup> смешанного реактива (10 см<sup>3</sup> 2,5%-ного раствора молибдата аммония, 10 см<sup>3</sup> 10%-ного раствора аскорбиновой кислоты и 30 см<sup>3</sup> 2 н. серной кислоты). Пробы выдерживали 1 ч в термостате при температуре 37°C, а затем с помощью фотометра фотоэлектрического КФК-3 определяли экстинкцию при длине волны 820 нм. По калибровочному графику определяли концентрацию фосфора фосфатного.

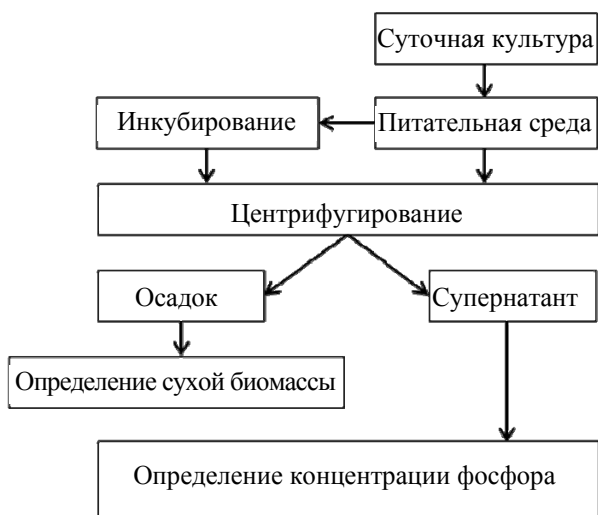


Рис. 1. Схема изучения влияния условий аэрации на способность бактерий к поглощению фосфора фосфатного из среды

По разности концентрации фосфора фосфатного в питательной среде до и после каждой стадии инкубирования оценивали количество потребленного фосфора фосфатного. Рассчитывали

значение поглощенного фосфора на единицу биомассы.

При инкубировании обоих изолятов в условиях аэрации на первой стадии наблюдалось уменьшение содержания фосфора фосфатного в среде и возрастание концентрации фосфора в биомассе (рис. 2, 3). На последующей стадии инкубирования в отсутствии аэрации для изолята II фиксировалась такая же картина, в то время как в случае изолята IV происходило увеличение содержания фосфора фосфатного в среде за счет снижения его содержания в биомассе.

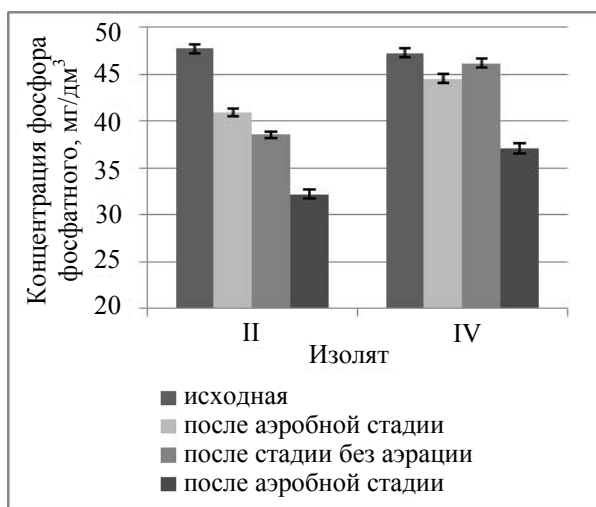


Рис. 2. Изменение концентрации фосфора фосфатного в среде при инкубировании бактерий в разных условиях аэрации

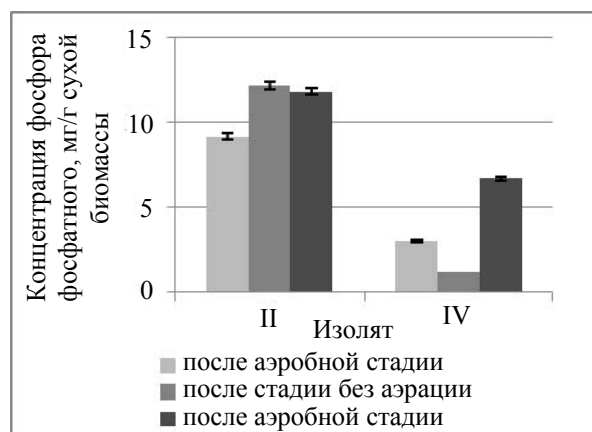


Рис. 3. Количество потребленного фосфора фосфатного на единицу биомассы при инкубировании бактерий в разных условиях аэрации

На последующей аэробной стадии в обоих вариантах концентрация фосфора фосфатного в среде снова уменьшалась, и возрастало его содержание в биомассе бактерий. В целом, количество потребленного из среды и накопленного в биомассе изолята II фосфора фосфатного

оказалось примерно в 2 раза выше, чем для изолята IV, поэтому для дальнейших исследований использовали изолят II.

Во второй серии экспериментов инкубирование бактерий начинали со стадии без аэрации, меняя длительность этой стадии. Такое инкубирование привело к незначительному снижению концентрации фосфора фосфатного в среде (рис. 4). Следует отметить, что во время последующей аэробной стадии также не наблюдалось существенного потребления фосфора фосфатного клетками бактерий. Различий в изменении содержания фосфора фосфатного в среде в зависимости от длительности инкубирования без аэрации не выявлено.

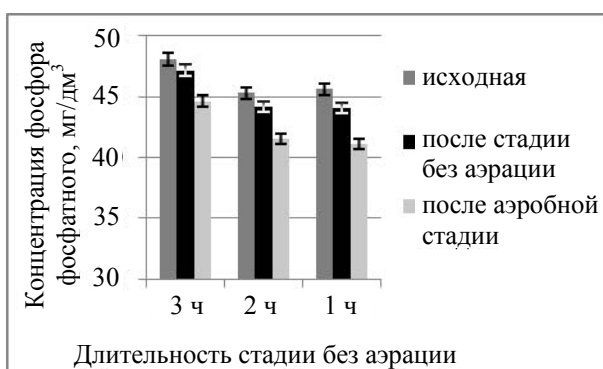


Рис. 4. Изменение концентрации фосфора фосфатного в среде при разной длительности инкубирования бактерий без аэрации

В пересчете на единицу биомассы бактерий количество фосфора фосфатного несколько возросло после стадии инкубирования в условиях аэрации и составило 3,0–3,3 мг/г сухой биомассы (рис. 5). Следует отметить, что потребление фосфора фосфатного из среды бактериями во время стадии без аэрации и последующей аэробной стадии не зависит от длительности первой стадии. Это может быть свидетельством того, что снижение потребления фосфора не связано с гибелью клеток в отсутствие аэрации. Дополнительным подтверждением жизнеспособности клеток является потребление ими фосфора фосфатного и прирост биомассы при последующем аэрировании.

Вместе с тем, потребление фосфора фосфатного из среды и накопление его в биомассе происходило значительно интенсивнее, когда инкубирование бактерий начинали со стадии аэрации. Концентрация фосфора в биомассе бактерий в этом случае достигала 12–13 мг/г сухой биомассы (рис. 3).

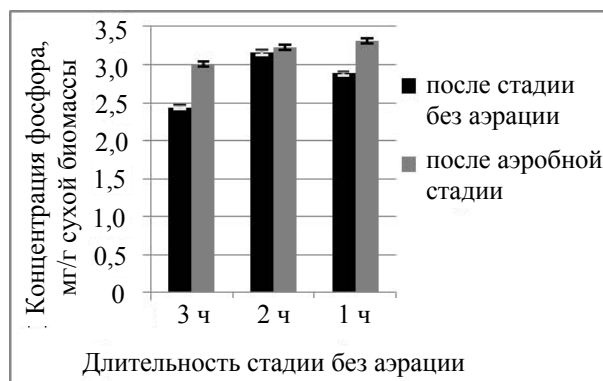


Рис. 5. Количество потребленного фосфора фосфатного на единицу биомассы при разной длительности инкубирования бактерий без аэрации

**Заключение.** При инкубировании в разных условиях аэрации бактерий, выделенных из активного ила и показавших способность к накоплению фосфора фосфатного, мы не наблюдали закономерностей, на которых основана биологическая очистка сточных вод от фосфора. В соответствии с биохимической моделью этого процесса в условиях аэрации бактерии потребляют фосфор фосфатный и выделяют его в среду в анаэробных условиях при использовании в качестве субстрата легкоокисляемых органических веществ (ацетата) [3]. Авторы обзора [4] отмечают, что из активного ила не выделены чистые культуры бактерий, метаболизм которых соответствовал бы этой модели, полагают, что изъятие фосфора осуществляется ассоциацией микроорганизмов, и отмечают, что биологическое удаление фосфора в системах активного ила требует дальнейшего изучения.

### Литература

1. Распространение фосфатаккумулирующих бактерий в сточных водах Пермского промузла / А. И. Саралов [и др.] // Микробиология. Экспериментальные статьи. – 1999. – Т. 68, № 1. – С. 144–121.
2. Снижение концентрации фосфата в среде клетками *Brevibacterium casei* / Л. П. Рязанова [и др.] // Микробиология. Экспериментальные статьи. – 2007. – Т. 76, № 6. – С. 752–758.
3. Жмур, Н. С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками / Н. С. Жмур. – М.: Акварос, 2003. – 512 с.
4. The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems / R. J. Seviour, M. Mino, M. Onuki // FEMS microbiology Reviews. – 2003. – Vol. 27, No. 1. – P. 99–127.

Поступила 28.02.2013