

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ

1871



21

1985

OXYGEN DEMAND AND NITROGEN EXCRETION
IN STHENOTEUTHIS PTEROPUS ST.

Summary

Oxygen demand and nitrogen excretion were investigated in Atlantic *Sthenoteuthis pteropus* at the habitation temperature of 26-28°C. Oxygen demand was measured by the polarographic method and ammonium nitrogen excretion — by the phenolhypochlorite method. The experiments were carried out in closed annular respirometers under free active swimming of animals. The obtained values for metabolism indices proved to be 1.8 and 2.8 times as high as those measured at low-mobile state. High levels of the oxygen demand and nitrogen excretion by *Sthenoteuthis pteropus* are observed. The calculated N/R ratio evidences for a large fraction of the protein utilization in the *Sthenoteuthis pteropus* energy metabolism.

УДК 576.8:551.46.09:628.39(26)

Э. П. ТАРХОВА

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ
ПРИ ПОЛУНЕПРЕРЫВНОМ
И ПРОТОЧНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ
НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Широкое распространение при очистке производственных сточных вод получил биохимический метод, основанный на способности микроорганизмов использовать в процессе своей жизнедеятельности различные органические вещества [2].

Разработанный в отделе морской санитарной гидробиологии ИнБЮМа АН УССР гидробиологический метод очистки нефтесодержащих морских вод [1] предусматривает целенаправленное использование некоторых нефтеокисляющих микроорганизмов. В связи с этим представляют интерес вопросы формирования микробиологических сообществ при разных способах культивирования.

Материал, использованный в данной работе, собран в феврале—апреле 1982 г. во время проведения экспериментальных исследований в мерных цилиндрах по полунепрерывному и на лабораторной установке по проточному культивированию микроорганизмов. В опытах по полунепрерывному культивированию на дно цилиндра емкостью 1 л были опущены керамические распылители, через которые продувался воздух. В цилиндр с культивируемой жидкостью вносились биогенные соли из расчета 85 мг NH_4NO_3 , 22 мг KH_2PO_4 на 1 л морской воды и нефтепродукты — 62 мкл на 1 л воды.

Перед постановкой опыта для ускоренного развития биомассы в качестве инокулята вносили сухой активный ил, который предварительно увлажняли, проверяли его жизнеспособность и затем аэрировали в течение суток. В дальнейшем, после смешения активного ила с загрязненной нефтью морской водой, проводили аэрацию в течение 12 ч, затем давали взмученной жидкости отстояться в течение 30 мин. После этого отстоявшуюся жидкость сливали, дополняли цилиндр новой свежей порцией загрязненной жидкости и вновь проводили аэрацию в течение 12 ч. Таким образом, замену жидкости в цилиндре проводили 2 раза в сутки.

Для проведения опытов по проточному культивированию микроорганизмов была применена лабораторная проточная установка, состоящая из приемника (бутыль емкостью 10 л) и аэратора объемом 2 л. В двухлитровую бутылку предварительно был внесен адаптированный к нефти активный ил и проведена аэрационная система. Воздух подавался с помощью двух лабораторных компрессоров и диспергировался керамическими распылителями. Скорость поступающей на очистку воды

первоначально составила один объем в сутки, а затем была увеличена до 3 объемов. Период аэрации продолжался 24 ч, температура поддерживалась на уровне 12, 18 °С. Количество нефти, внесенное в эмульгированном виде в установку, составило 24—100 мг/л морской воды. О приросте биомассы судили по пропусканию взмученной воды из аэратора (в количестве 100 мл в двух повторностях) через беззольные фильтры, которые высушивались и доводились до постоянного веса при температуре 80—105 °С.

Прирост биомассы начинали определять тогда, когда было удовлетворительным состояние микрофлоры. Прирост биомассы активного ила в цилиндре полунепрерывного культивирования оценивали ежедневно в течение 9 дней:

Дата	15.03	16.03	17.03	18.03	19.03	20.03	21.03	22.03	23.03
Прирост биомассы, г	—	—	—	0,079	0,071	0,1	0,1	0,1	0,098

Как видим, в первые 3 суток не наблюдалось заметного прироста активного ила. На 4-е сутки прирост биомассы составил 79 мг, на 5-е сутки — 100 мг, и в дальнейшем прироста не было. При просмотре активного ила под микроскопом заметно исчезали микроорганизмы, которые составляли его основу. В пробе преобладали мелкие подвижные палочковидные клетки с очень активным движением, которые были характерными представителями морской воды, подаваемой в цилиндр. В капле воды также можно было увидеть палочковидные клетки средних и больших размеров, подвижные и неподвижные, одиночные, в парах и цепочках. Отмечены единичные экземпляры спирилл, овальных клеток различных размеров. Через 6—7 дней работы аэрационного сосуда в активном иле обнаружены зооглейные скопления. В опытах по полунепрерывному культивированию через 10 дней работы отмечена очень разнообразная и обильная микрофлора, относящаяся к родам *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Mycobacterium*, *Sarcina*.

В первые дни работы установки по проточному культивированию микроорганизмов при заданных параметрах микрофлора была довольно скудной. В пробе, просматриваемой под микроскопом, изредка встречались бактериальные клетки внесенной с активным илом микрофлоры. На 5-е сутки при микроскопировании прослеживались уже другие формы бактерий, и на 10-й день отмечалось заметное увеличение бактериальных форм как в количественном, так и в качественном отношениях. Результаты прироста биомассы представлены ниже:

Дата	03.03	05.03	09.03	17.03	19.03	22.03	24.03	29.03	31.03	02.04
Прирост биомассы, г	0,01	0,03	0,03	—	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05	0,12

Полученные данные свидетельствуют о незначительном приросте биомассы (от 10 до 120 мг/л морской воды), что, по-видимому, объясняется прежде всего низкой температурой морской воды, поступающей в аэротенк (+12 °С). Следует обратить внимание также и на конструкцию аэратора с широким дном, где, возможно, не было полной аэрации активного ила и наблюдались застойные явления, что, вероятно, сказалось на низком приросте биомассы активного ила.

Учет численности микроорганизмов в установке проточного культивирования методом предельных разведений показал, что в первые дни работы установки численность углеводородокисляющих бактерий составила 10^2 — 10^3 кл/мл морской воды.

На 11-й день работы установки число клеток в 1 мл заметно возросло и составило 10^6 кл/мл морской воды; к концу двухнедельного срока работы количество бактерий в 1 мл равнялось 10^8 кл/мл. В дальнейшем увеличения количественного содержания бактерий в пробах, отобранных в аэротенке, не наблюдалось, наоборот, отмечена была тен-

Групповой состав углеводов в установке биологической очистки

Нефтепродукт	Масла	Бензольные смолы	Спирто-бензольные смолы	Асфальтены и асфальтогеновые кислоты
Исходная Ромашкинская нефть	68,8	14,9	7,4	1,1
Нефть после месячной работы установки	52,7	11,6	32,8	2,8

денция к снижению, что, вероятно, объясняется накоплением продуктов метаболизма из-за недостаточной аэрации активного ила.

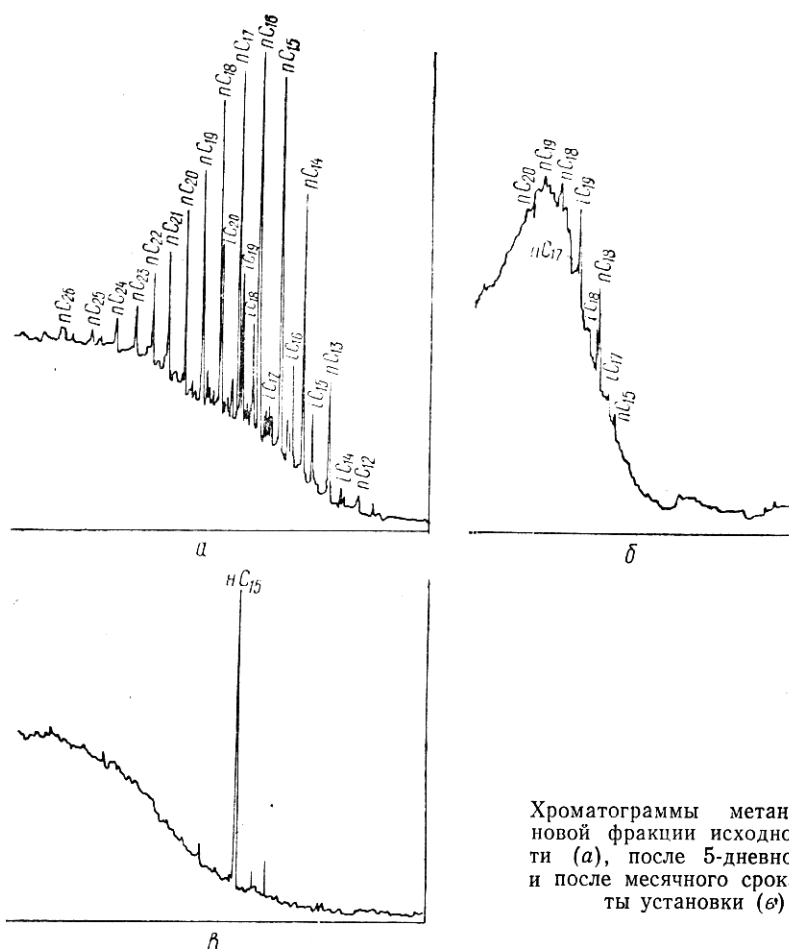
Зная элементный состав микробной клетки и количественное содержание бактерий в установке биологической очистки, нами был проведен ориентировочный расчет потребности микроорганизмов в углеводе. Исходя из полученных данных установлено, что в 1 мл содержится 100 млн. клеток, а следовательно, в 1 л — 100 млрд. клеток. Если учесть, что 1 млрд. клеток весит 1 мг, то вес 100 млрд. клеток составит 100 мг. Принимая во внимание среднесуточную производительность установки 6 л/сут, надо полагать, что биомасса бактерий должна равняться 600 мг. Клетки микроорганизмов обычно содержат до 20% сухих веществ. В пересчете на сухое вещество биомасса микроорганизмов в установке биологической очистки составила 120 мг. По элементному составу от общего количества сухих веществ на углерод приходится 50%, т. е. для восполнения потребностей микроорганизмов в углеводе в установку необходимо внести 60 мг углевода. Нами в установке биологической очистки вносились в эмульгированном виде различные дозировки нефти — от 24,0 до 100 мг/л, с учетом того, что на биомассу микроорганизмов идет 1/3 органоенов, а 2/3 расходуется на энергетический обмен [3].

Микроскопический анализ активного ила в первые дни работы установки при постоянном протоке показал единичные клетки внесенной в установку микрофлоры. В дальнейшем при микроскопировании было заметно исчезновение внесенной микрофлоры и появление клеток малых размеров, очень подвижных, не характерных для сухого активного ила.

На 14-й день работы в биоценозе установки была отмечена очень разнообразная микрофлора. Превалировали палочковидные клетки различной величины, в большинстве случаев подвижные, четкие, одиночные и в парах. Значительно реже встречались короткие неподвижные палочки с тупо закругленными концами. Следует отметить появление зооглейных скоплений, простейших грибов, червей.

Одновременно с изучением биоценоза активного ила были проведены исследования по изучению углеводородного состава проходящей через установку нефти. В таблице приведены данные группового состава исходной нефти в начале опыта и через месяц работы установки. Как видим, при прохождении нефти через установку биологической очистки происходит уменьшение масляной фракции и увеличение спирто-бензольных смол, асфальтенов и асфальтогеновых кислот. При дальнейшем исследовании масляной фракции на газовом хроматографе была получена картина изменения ее при различных сроках пребывания в установке.

Хроматограмма метанонафтенной фракции исходной нефти показана на рисунке (а). Приведенные данные свидетельствуют о том, что диапазон углеводородов приходится на C_{12} — C_{24} . Максимум в нормальных парафинах приходится на C_{15} — C_{17} . После 5-дневного срока работы установки в пробе (рисунок, б) зафиксировано значительное увеличение неразложимого фона и уменьшение количественного и качественного состава нормальных алканов. По истечении месячного срока работы установки в пробе (рисунок, в) наблюдается полное исчезновение нормальных алканов и увеличение пентодекана (C_{15}). Исходя из получен-



Хроматограммы метанонафтенной фракции исходной нефти (а), после 5-дневного (б) и после месячного срока работы установки (в).

ных данных по углеводородному составу проходящей через установку нефти можно заключить, что идет уменьшение низкокипящих углеводородов и увеличение асфальтосмолистых компонентов.

Таким образом, прирост биомассы активного ила в установке непрерывного культивирования составил 10—120 мг/л морской воды за сутки. Микрофлора активного ила в пусковой период характеризуется незначительным разнообразием; количественное содержание бактерий невысокое — 10^2 — 10^3 кл/мл морской воды. К концу двухнедельного срока работы установки разнообразие увеличивается, появляются зооглейные скопления, черви, простейшие. Численность углеводородокисляющих бактерий составила 10^8 кл/мл морской воды.

1. Миронов О. Г. Некоторые проблемы охраны моря от загрязнения. — Пробл. экологии моря и мирового океана, 1973, № 2, с. 18—23.
2. Роговская Ц. И. Биохимический метод очистки производственных сточных вод. — М.: Стройиздат, 1967. — 135 с.
3. Чепурнова Э. А. Интенсивность роста и обмена у морского бактериопланктона: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Севастополь, 1977. — 26 с.

Ин-т биологии юж. морей
им. А. О. Ковалевского
АН УССР, Севастополь

Получено 09.03.83

**MICROBIOLOGICAL PROCESSES UNDER SEMICONTINUOUS
AND FLOWING CULTIVATION
OF THE OIL-OXIDIZING MICROORGANISMS**

Summary

Experimental data show the active silt biomass increase under semicontinuous and flowing cultivation of microorganisms. Slight variety is characteristic of the microflora in the start-up period; the number of species increases by the end of a fortnight and zoogloea aggregations appear. The quantity of hydrocarbon-oxidizing bacteria after the expiry of a fortnight amounted to 10^8 cell/ml of the sea water.

УДК 592.2:577.1

В. А. ТАМОЖНЯЯ, С. А. ГОРОМОСОВА

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА МИДИЙ
ПРИ ДЕЙСТВИИ НА НИХ ТОКСИНОВ**

Проблема борьбы с обрастанием морских судов и подводных гидротехнических сооружений в настоящее время приобрела новые аспекты. Высокая токсичность применяемых противообрастаемых красок, содержащих медь, олово, мышьяк и другие тяжелые металлы, отражается на состоянии биоценозов в закрытых и полужакрытых бухтах. Для прогноза возможных изменений качества природной среды важное значение получает использование систем биологических индикаторов на клеточном, организменном, биохимическом и других уровнях организации.

Для выявления действия ядов на жизнедеятельность гидробионтов обрастания все чаще используются биохимические показатели, характеризующие уровень и направленность метаболизма. В настоящей работе с этой целью использовались следующие биохимические показатели: концентрация водородных ионов (рН), содержание растворенных органических веществ (РОВ), и нингидринположительных веществ (НПВ). Определения велись в мантийной жидкости мидий и окружающей их морской воде из экспериментальных сосудов с добавлением токсинов, входящих в состав противообрастаемых покрытий. Поскольку в непроточных сосудах к действию ядов прибавляется эффект гипоксии, для сравнения получена динамика этих показателей в условиях анаэробноз.

Мидий из Севастопольской бухты помещали на сутки в проточный аквариум для преадаптации. Равноразмерных мидий (40—50 мм) по 5—10 экз. помещали в 0,5 л токсина. Такую же группу помещали в герметически закрытый сосуд с морской водой, лишенной кислорода продуванием газообразного азота. Опыты проводили в ноябре—декабре, температура морской воды составляла 12—13 °С, время экспозиции — 2, 24 и 48 ч.

В качестве ядовитых компонентов были взяты ионы меди в составе сульфата, которые добавляли в морскую воду в концентрации 0,1—10 мг/л, и два мышьякорганических соединения — хлорфеноксарсин (ХФА) и П-оксид. Последние два яда брали в виде растворов, полученных при выщелачивании красок в морскую воду, что обусловило более узкие пределы их концентраций (0,1—1,3 мг/л). Холостой пробой служила морская вода, насыщенная азотом или ядовитым компонентом, без мидий.

Мантийную жидкость (МЖ) мидий и воду, в которой они содержались, фильтровали через мембранный фильтр № 3 и тотчас измеряли рН и РОВ. Эти же растворы использовали для определения НПВ с нингидриновым реактивом фирмы «Реанал» методом Х. Н. Починок [2]. Значение рН измеряли с помощью стеклянного электрода на рН-метре-