

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА імені О. М. БЕКЕТОВА

І. М. Чуб

МІКРОБІОЛОГІЯ І ХІМІЯ ВОДИ

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ

*(для студентів 1-2 курсів денної і заочної форм навчання
галузі знань 19 – Архітектура та будівництво, спеціальності 192 –
Будівництво та цивільна інженерія спеціалізація (освітня програма)
«Гідротехніка» (Водні ресурси))*

Харків
ХНУМГ ім. О. М. Бекетова
2019

ЧУБ І. М. Мікробіологія і хімія води : конспект лекцій з дисципліни для студентів 1-2 курсів денної і заочної форм навчання галузі знань 19 – Архітектура та будівництво, спеціальності 192 – Будівництво та цивільна інженерія спеціалізація (освітня програма) «Гідротехніка» (Водні ресурси) / І .М. Чуб ; Харків. нац. ун-т міськ. госп-ва ім. О. М. Бекетова. — Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2019. – 122 с.

Автор

канд. техн. наук, доц. І. М. Чуб

Рецензенти:

С. С. Душкін, професор, доктор технічних наук, професор кафедри водопостачання, водовідведення і очищення вод (Харківський національний університет міського господарства ім. О. М. Бекетова);

Ф. В. Стольберг, професор, доктор технічних наук, завідувач кафедри інженерної екології міст (Харківський національний університет міського господарства ім. О. М. Бекетова)

Рекомендовано кафедрою водопостачання, водовідведення та очищення вод, протокол від № 1 від 2.09.2017 .

Конспект лекцій складено з метою допомоги студентам будівельних спеціальностей ВНЗ при підготовці до занять, заліків та іспитів із дисципліни «Мікробіологія води».

© І. М. Чуб, 2019

© ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2019

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
<i>ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1.1 ПРИРОДНІ ВОДИ ЯК СЕРЕДОВИЩЕ ІСНУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ</i>	
Лекція 1 Загальна характеристика природних вод. Вплив різних токсикантів на мікроорганізми та гідробіонти.....	5
Лекція 2 Морфологія мікроорганізмів	23
Лекція 3 Загальна характеристика основних груп мікроорганізмів	30
Лекція 4 Будова, розмноження і систематика грибів, найпростіших, водоростей.....	36
Лекція 5. Фізіологія мікроорганізмів	47
<i>ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1.2 МІКРООРГАНІЗМИ У ПРОЦЕСАХ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД</i>	
Лекція 6 Процеси самоочищення водойм. Сапробність	53
Лекція 7 Біологічне окиснення	69
Лекція 8 Біологічне окиснення різних класів органічних речовин у аеробних умовах	73
Лекція 9 Біохімічне очищення стічних вод у природних і штучних умовах	81
Лекція 10 Біологічне окиснення органічних речовин у анаеробних умовах.....	88
Лекція 11 Методи біотестування з використанням безхребетних.....	95
Лекція 12 Поширення мікроорганізмів у природі. Вплив факторів зовнішнього середовища	106
Лекція 13 Роль мікроорганізмів у кругообігу речовин в природі.....	110
Лекція 14 Мікрофлора біосфери	116
СПИСОК ДЖЕРЕЛ.....	122

ВСТУП

Мікроорганізми є обов'язковим компонентом будь-якої екосистеми. Інтенсивна життєдіяльність великої кількості мікроорганізмів є важливим фактором забезпечення динамічної рівноваги в біосфері. Кругообіг біогенних елементів можливий лише за участю мікроорганізмів. Їх широке розповсюдження зумовлене малими розмірами, швидкістю розмноження, різноманітністю, гнучкістю метаболізму, стійкістю до несприятливих факторів середовища. Мікроорганізми мають високий адаптаційний потенціал, що обумовлює здатність пристосування в середовищах і умовах, згубних для інших живих істот. В умовах, які визначаються як екстремальні, часто існують тільки мікроорганізми, наприклад, при екстремальних значеннях солоності, температури, рН тощо.

Мікробіологія води вивчає екологію мікроорганізмів, що живуть у воді, вплив різних токсикантів на мікроорганізми та гідробіонти, мікробіологічне забруднення водойм.

Морфологію та фізіологію всіх представників мікросвіту (бактерії, гриби, найпростіші, віруси). За своєю суттю мікробіологія води є фундаментальною наукою для фахівців у області очищення води.

Цей конспект лекцій містить теоретичні основи курсу: показані різноманітність мікроорганізмів, наведено їх морфологію, основні фізіологічні та біохімічні властивості. Так само розглянуті процеси взаємодії мікроорганізмів і навколишнього середовища, роль мікроорганізмів та направленість хіміко-біологічних процесів під час очищення стічних вод.

Особлива увага приділяється питанням міграції та трансформації токсичних речовин у водному середовищі, біотрансформації токсичних забрудників за допомогою мікроорганізмів, біологічного розпаду органічних речовин, поширення мікроорганізмів у біосфері, їх ролі в кругообігу речовин у природі, участі в процесах самоочищення природного середовища від техногенних факторів.

Після кожного розділу наведені питання для самоконтролю, необхідні для самостійної роботи студентів під час вивчення теоретичного матеріалу курсу.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1.1

ПРИРОДНІ ВОДИ ЯК СЕРЕДОВИЩЕ ІСНУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

Лекція 1 Загальна характеристика природних вод. Вплив різних токсикантів на мікроорганізми та гідробіонти

1. Загальна характеристика природних вод.
2. Мікрофлора води.
3. Міграція та трансформація токсичних речовин у водному середовищі
4. Біотрансформація токсичних забрудників за допомогою мікроорганізмів.
5. Шляхи надходження отрут в організми гідробіонтів.
6. Біологічна акумуляція токсикантів у водних екосистемах.

1 Загальна характеристика природних вод

Водні ресурси, що формуються на території України, надзвичайно обмежені. Їхній обсяг складає 52 км³/рік, у тому числі підземні – до 13 км³/рік, поверхневі – до 39 км³/рік. Водоспоживання в Україні неухильно наближається до межі ресурсів і досягає 30–36 км³/рік. При цьому 88 % основних рік мають екологічний стан басейнів, що оцінюються як поганий, дуже поганий і катастрофічний. У 61 % основних рік України вода оцінюється як сильно забруднена, і тільки 3 % рік мають воду задовільної чистоти [1-2]. Водойми містять велику кількість мікроорганізмів: чисті водойми – десятки та сотні тисяч мікроорганізмів у 1м³, забруднені – мільйони та мільярди мікроорганізмів у 1м³. Також їх кількість залежить від пори року (влітку у водоймах дуже зростає кількість мікроскопічних водоростей та ціанобактерій, які можуть викликати цвітіння води). Мікроорганізми нерівномірно розподілені у водоймах, біля берегів їх більше, на глибині – менше. Серед них є види, що постійно мешкають у водоймах, а також ті, що потрапляють туди з опадами, стічними водами тощо. Мікрофлора представлена різноманітними групами мікроорганізмів – зустрічаються бактерії, мікроскопічні гриби, актиноміцети, водорості, найпростіші [1-2]. Для кількісного та якісного аналізу води використовують багато різноманітних мікробіологічних методів у зв'язку з тим, що видовий склад мікрофлори дуже відрізняється залежно від характеру водойми, глибини, ступеня забруднення тощо.

Природні води є середовищем, у якому мікроорганізми можуть розмножуватися. Інтенсивність розмноження мікробів у воді залежить від низки чинників і, в першу чергу, від вмісту в ній компонентів живлення мікроорганізмів. Природні води завжди містять у більшій або меншій кількості розчинені органічні й мінеральні речовини, які можуть бути використані мікроорганізмами для харчування. Кількісний та якісний склад мікрофлори різних природних вод різний [1-3]. Склад мікрофлори підземних вод (артезіанської, джерельної та ін.) залежить головним чином від глибини залягання водоносного шару, характеру ґрунту. Артезіанські води, що

знаходяться на великих глибинах, містять дуже мало мікроорганізмів. Підземні води, що видобуваються через звичайні колодязі з неглибоких водоносних шарів, куди можуть просочуватися поверхневі забруднення, містять зазвичай значну кількість бактерій, серед яких можуть бути і хвороботворні. Чим вище розташовані ґрунтові води, тим ряснішою є їхня мікрофлора [1-2]. Поверхневі води відрізняються великою різноманітністю й мінливістю хімічного складу та складу мікрофлори. Ці води забруднюються залишками рослин, промисловими та побутовими відходами. Забруднення потрапляють у водойми головним чином із дощовими потоками та стічними водами промислових виробництв. Разом із різними органічними й мінеральними забрудненнями у водойми вносяться мікроорганізми, серед яких можуть бути і патогенні [3]. Збудники кишкових інфекцій та інші патогенні бактерії у воді довго зберігаються вірулентними. Так, збудник черевного тифу зберігається у водопровідній воді 2 – 93 дні.

2 Мікрофлора води

Мікроорганізми – обов'язкові мешканці прісних і солоних водойм, які відіграють ключову роль у їхній життєдіяльності, забезпечуючи замкнені цикли основних біогенних елементів. Вода є природнім середовищем існування різноманітних мікроорганізмів. У прісних і солоних водах виділяють всі таксономічні групи бактерій, найпростіших, водоростей. Сукупність всіх водних мікроорганізмів позначають терміном «мікробіальний планктон». Його якісний склад залежить від пори року, метеорологічних факторів, ступеня віддаленості водойми від населених пунктів, хімічного складу джерела, характеру ґрунту берегів, наявності і складу гідробіонтів, від джерел забруднення.

Водна оболонка Землі (гідросфера) являє собою сукупність морів, озер, річок, боліт, підземних вод. Із загальної кількості води на Землі лише 2,5 % припадає на прісну воду. Проте переважна її більшість прісної води важкодоступна: майже 70 % її міститься в гірських і полярних льодовиках. В озерах та руслах річок лише 0,006 % прісних вод. Об'єм підземних прісних вод приблизно в 100 разів більше. Ґрунтові води, хоча й утворюють великий прісноводний резервуар та являють собою дуже важливий для людей питний ресурс, мало населені мікроорганізмами. Мікрофлору водоймищ утворюють 2 групи: автохтонні (водні) і аллохтонні (потрапляють ззовні в разі забруднень різного походження). Автохтонна мікрофлора – сукупність мікроорганізмів, що постійно живуть і розмножуються у воді. Частково ця група поповнюється мікрофлорою прибережної зони: ґрунту, мулу та рідко повітря. Автохтонна мікрофлора чистих водоймищ представлена сапрофітами ґрунту *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus*, *Micrococcus roseus*, анаеробні організми зустрічаються у воді дуже рідко. У намулі океанів і морів, боліт, гарячих мінеральних джерел, нафтових свердловин та в інших місцях з обмеженою кількістю кисню мешкають найбільш древні на нашій планеті істоти – архебактерії – метаноутворюючі бактерії, які для своєї життєдіяльності використовують вуглекислоту та водень. У воді, що містить органічні

речовини, багато клостридій. Вода, що містить сірководень, багата на фотосинтезуючі бактерії.

Мікрофлора річок залежить від ступеня їх біологічної забрудненості та якості очищення стічних вод. Аллохтонна мікрофлора – це сукупність мікроорганізмів, що потрапляють ззовні із різних джерел забруднення. Джерелом аллохтонної мікрофлори є виділення людей, тварин, господарсько-побутові, промислові стічні води. Серед аллохтонних можуть зустрічатись патогенні для людини мікроорганізми. Але порівняно з автохтонними вони швидше відмирають у воді, якщо нові умови відрізняються від попередніх, в яких вони існували. Відносно детально вивчено мікрофлору озер. У багатьох озерах відбувається явище стратифікації – розташування шарів води за вертикаллю, спричинене нагріванням та охолодженням води влітку і взимку. Зазвичай нижній шар води холодніший і містить більше розчинних солей, верхній шар тепліший. Верхній шар називають епілімніон, нижній – гіполімніон, середній – металімніон. Навесні й восени, коли температура всієї водної маси вирівнюється, відбувається перемішування води. Першою чітко вираженою екологічною нішею в епілімніоні є поверхнева плівка води. У ній концентруються поживні речовини, переважно ліпіди, які надходять з води із повітря. Тут масово скупчуються мікроорганізми, які прикріплюються до межі розділення фаз. Концентрація мікроорганізмів у поверхневій плівці набагато вища, ніж у нижньому шарі води. Сукупність організмів, які мешкають у поверхневій плівці води, називають нектон. Ціанобактерії зустрічаються у всій товщі епілімніону, але особливо інтенсивно вони розвиваються внизу. Частина клітин фототрофів (бактерій і водоростей) поїдають безхребетні, частина відмирає, а рештки забезпечують можливість розвитку гетеротрофним бактеріям та іншим мікроорганізмам – вторинним продуцентам. У верхній частині епілімніону завдяки фотосинтезу, що здійснюється фототрофами – водоростями і ціанобактеріями, відбувається синтез органічної речовини. Сюди також надходять екзогенні органічні речовини. Частина організмів осідає, нагромаджуючись у металімніоні і на дні водойми, де відбувається їхнє розкладання. Споживання при цьому кисню сприяє утворенню біля дна водойми, а потім і в гіполімніоні анаеробних умов.

За сприятливих умов, які створюються в гіполімніоні, відбувається бурхливий розвиток анаеробних фототрофних бактерій, головним чином пурпурних. Первинна продукція анаеробних фототрофів, як уже зазначалося, може бути доволі значною. Елементарна сірка, що утворюється у процесі фотосинтезу, відразу використовується сульфатредукторами. У результаті анаеробних процесів нагромаджуються різні продукти бродіння, зокрема молекулярний водень, метан, сірководень, а також вуглекислота. Ці гази у вигляді бульбашок піднімаються догори. У металімніоні вміст біогенних мінеральних речовин вищий, ніж у епілімніоні, але розвиток аеробних форм лімітований нестачею кисню. Деякі ціанобактерії, які тут активно розвиваються (*Oscillatoria*), стійкі до сірководню та здатні до аноксигенного фотосинтезу за рахунок використання сірководню як відновлювача вуглекислоти. Біля нижньої межі кисневої зони можуть розвиватися аеробні сіркобактерії. Озера з

бурхливим розвитком фототрофів та великою кількістю органіки називають евтрофними. Організми в озерах, бідних на елементи мінерального живлення, називаються оліготрофними. Особливі умови для розвитку мікроорганізмів створюються в мулових відкладеннях. Склад ценозів поверхневого шару намулу визначається, передусім, кисневим режимом придонного шару води. За відсутності кисню в мулі відбуваються послідовні стадії анаеробного розпаду осідаючих органічних решток. Процес завершують метаноутворювальні та сульфатредукуючі мікроорганізми. Якщо в придонному шарі води є кисень, у поверхневих зонах мулу утворюється кілька вузьких мікрозон, які характеризуються різними значеннями окисно-відновного потенціалу та різною мікрофлорою. У мулі прісних водоймищ переважають анаероби, що розкладають клітковину, сіркобактерії, нітрифікуючі бактерії, азотофіксуючі мікроорганізми. Між проточними і стоячими прісними водоймами існує різниця. Обмін між сушею та водою інтенсивніше виражений у річках, тому там створюється більш «відкрита» екосистема. У річках набагато вища концентрація кисню, і він більш рівномірно розподілений у воді, там менше (або відсутня зовсім) виражена термічна стратифікація. Винятком можуть бути великі річки з повільною течією.

Підземні води фільтруються через пласти землі, очищаються від мікрофлори і тому містять мало мікробів. Особливо чисті води глибоких артезіанських колодязів, джерельні води. Води відкритих водойм часто забруднюються стічними, дощовими, талими водами, що призводить до потрапляння у водойми великої кількості мікроорганізмів, що різко змінює мікробний біоценоз і санітарний режим. Основним шляхом мікробного забруднення є потрапляння у воду неочищених міських відходів.

Стічні води містять представників нормальної мікрофлори кишечника людей і тварин, включаючи умовно патогенну мікрофлору. До її складу можуть входити і патогенні види – збудники кишкових інфекцій, лептоспірозів, віруси поліомієліту, гепатиту. Мікробне забруднення водоймищ відбувається також під час купання людей, худоби, прання, тому у воді можна виявити стафілокок, БГКП, ентерокок, гриби та ін. мікроорганізми. Залежно від ступеня забрудненості у водоймищах тривалий час можуть зберігатись і хвороботворні бактерії. У водопровідній, річній і колодязній воді сальмонели можуть знаходитись від 2 діб до 3 місяців, шигели 5–9 діб, лептоспіри – 7–150 діб, холерний вібріон у воді річок виживає декілька місяців, збудник туляремії – від декількох діб до 3 місяців.

Мікроорганізми широко розповсюджені у водах морів та океанів, їх знаходять на глибині 3700–10000 м. Моря займають 70 % земної поверхні, причому життя виявляють на всіх глибинах моря. Основними бар'єрами для вільного переміщення морських організмів є солоність морської води, температура та глибина. Хоча в морях і океанах не існує безжиттєвих зон, проте, поблизу материків і островів вода заселена значно більше, зокрема й мікроорганізмами. Найбільша кількість мікробів реєструється у прибережних водах морів. На глибині до 1 км зустрічаються поодинокі представники мікробів, на глибині більше 4 км мікроби практично відсутні. Морські

мікроорганізми, на відміну від прісноводних, потребують іонів натрію. Причому потреба в натрію в різних морських мікроорганізмів виражена по-різному і змінюється залежно від складу середовища. Так, деякі морські бактерії в лабораторних умовах можуть рости без натрію на складних органічних середовищах, але потребують його для росту на простих синтетичних. У клітинах морських мікроорганізмів виявлено поліаміни, причому їхній вміст збільшується за зменшення концентрації солі в середовищі. Поліаміни сприяють стабілізації мембран морських мікроорганізмів у цих умовах.

Мікроорганізми, які мешкають у солоній воді, належать до різних таксономічних груп: *Alcaligenes*, *Flavobacteriu*, *Pseudomonas*, *Vibrio*. Для морської води характерною є така мікрофлора, що викликає фосфоресценцію риб і води. Оптимальна концентрація NaCl для морських мікроорганізмів становить 2,5–5 %. Вода є фактором передачі багатьох інфекційних захворювань: черевного тифу, сальмонельозних гастроентеритів, холери, дизентерії, лептоспірозів та ін. У світі існує велика кількість систем для біологічного аналізу та оцінювання якості води. Однією з них є класифікація водойм за показниками сапробності, згідно з якою водойми поділяються на 4 зони.

Якості водопровідної води вважається високою, якщо загальна кількість мікробів в 1 мл становить 100, сумнівною – 100–150, забрудненою – 500 і більше. У воді колодязів та відкритих водойм кількість мікробів у 1 мл не має перевищувати 1 000. Якість води оцінюється за наявністю в ній кишкової палички. Колі-індексом називається кількість кишкової палички, яка виявляється в 1 л води. Колі-титром – найменша кількість води, в якій виявляється хоча б одна кишкова паличка. Наявність останньої у воді свідчить про забруднення її вмістом шлунково-кишкового тракту. Якість водопровідної води вважається хорошою, якщо колі-індекс 2–3, а колітитр 300. Вода колодязів повинна мати колі-індекс не більше 10, колі-титр не менше 100.

Крім того, для визначення забрудненості води враховують присутність у воді *Str. faecalis*, оскільки ці бактерії є представниками нормофлори тіла людей і тварин, тому свідчить про фекальне забруднення води. Вода – середовище, для якого характерне самоочищення. Фактори самоочищення можна поділити на **фізичні, хімічні та біологічні**.

Фізичні фактори. Осадження у воді нерозчинного органічного осаду. Мікроби внаслідок своєї ваги, а також того, що вони адсорбовані на різних органічних і неорганічних частинках, поступово осідають на дно. Сонячне світло згубно діє на мікрофлору води. Інтенсивні переміщення та тертя шарів води під час протікання призводить до загибелі бактерій. В проточній воді самоочищення відбувається швидше, ніж у стоячій. Розбавлення забрудненої води чистими водами впадаючих річок також сприяє очищенню й покращує її якість. Випаровування деяких летких речовин, таких як аміак та ін. також покращує якість води.

Хімічні фактори. Окиснення деяких органічних і неорганічних речовин, таких як сірководень. Олігодинамічна дія деяких металів та їх солей (золото,

срібло, мідь). Вода річок, озер часто має бактерицидні властивості. Морська вода діє згубно на деякі сапрофітні бактерії, причому її бактерицидність зберігається після фільтрації та автоклавування.

Біологічні та біохімічні фактори. Велику роль у самоочищенні води відіграє бактеріофаг, що у великій кількості потрапляє у воду разом з бактеріями. Бактеріофаг може свідчити про наявність у воді специфічної патогенної мікрофлори. Мікробний антагонізм серед окремих видів також сприяє самоочищенню води. Значну роль у самоочищенні води відіграють біохімічні процеси, зумовлені життєдіяльністю бактерій, інфузорій, рачків та ін. гідробіонтів. У результаті процесів гниття, бродіння відбувається розклад органічних сполук до більш простих і в подальшому утворюються кінцеві продукти розпаду, такі як аміак, вуглекислий газ, вода та ін. Ці процеси розпаду й мінералізації ведуть до збіднення води органічними речовинами й відмирання мікроорганізмів.

3 Міграція та трансформація токсичних речовин у водному середовищі

Будь-яка екосистема, у тому числі й водна, в основі свого функціонування має колообіг речовин і енергії. Водойми різного типу та призначення сучасними дослідниками [1-3] розглядаються як відкриті термодинамічні системи, до яких постійно надходять алохтонні неорганічні й органічні речовини та виділяються автохтонні сполуки – продукти життєдіяльності гідробіонтів та окисно-відновних хімічних реакцій. Речовини, що надійшли у водне середовище, негайно залучаються до ланцюга різноманітних переміщень і перетворень. Їхня доля визначається власними властивостями (розчинність у воді, активність дисоціації, летючість, здатність розподілятися між твердою та рідкою фазами, між полярними й неполярними розчинниками, здатність до комплексоутворення, гідролізу та фотолізу, швидкість руйнування) та дією численних абіотичних і біотичних чинників водного середовища. При цьому відбуваються фізичні (механічне перемішування та перенесення, розбавлення, випаровування, осадження, адсорбція й десорбція, фотоліз) та геологічні процеси (поховання в донних відкладах і породоутворення), хімічні (дисоціація, гідроліз, окисно-відновні реакції, комплексоутворення) та біологічні (поглинання живими організмами, руйнування й перетворення за участю ферментів) трансформації.

Наглядно зобразити основні шляхи міграцій та напрями трансформації токсичних речовин у водному середовищі можна за допомогою такою схеми (рис. 1.1).

Для поширення токсикантів у водному середовищі важливе значення має гідрологічний режим водойм [1], зокрема, гідродинамічні особливості формування течій, які визначають перенесення і дифузію забруднюючих речовин, осадження та змочування зависей. Наявність горизонтальної та вертикальної циркуляції водних мас дозволяє токсичному забрудненню поширитися за короткий час на значні відстані й охопити потужну товщу води.

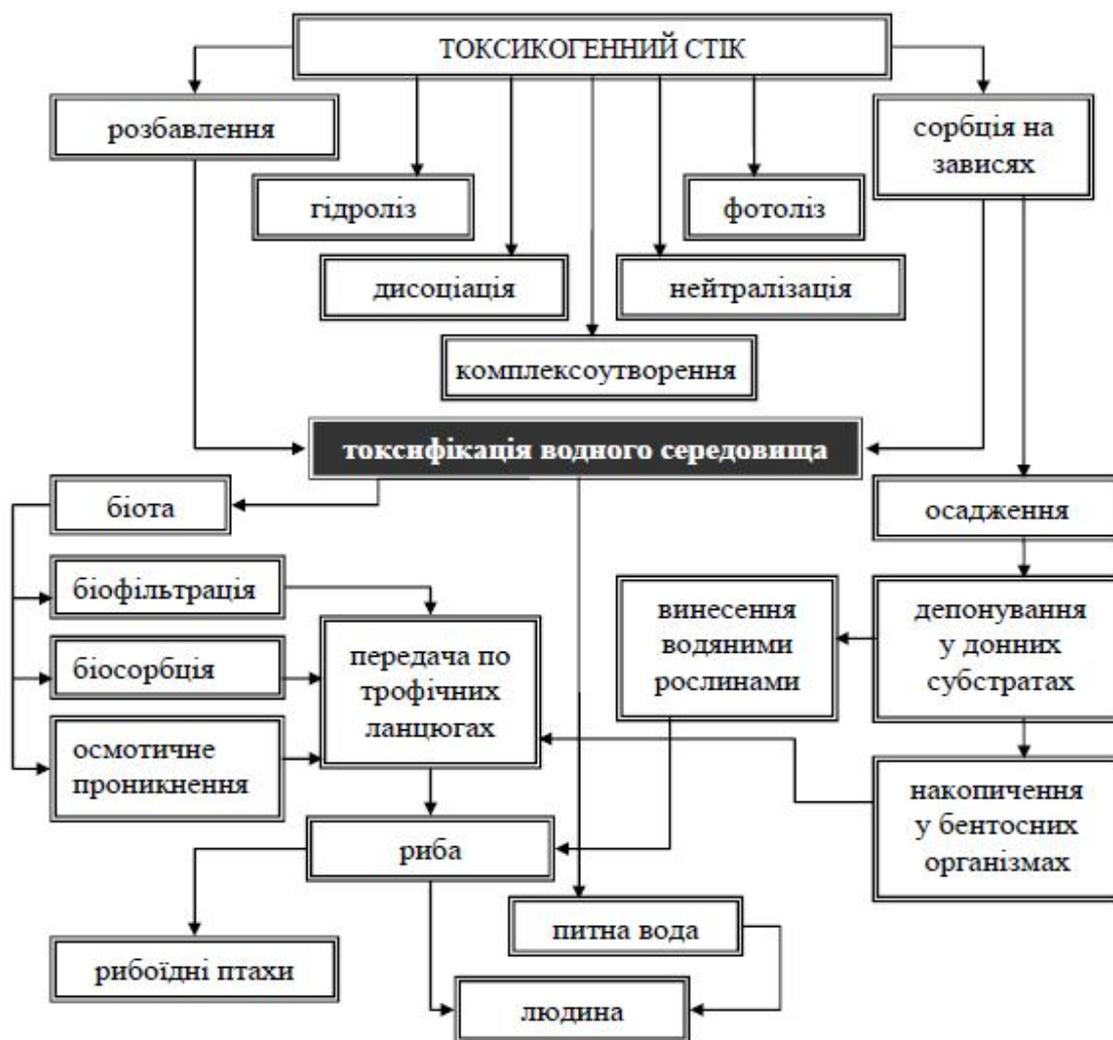


Рисунок 1.1 – Основні шляхи міграції та процеси трансформації токсичних речовин у водних екосистемах

У стоячих водах формуються локальні зони забруднення з більш високим ступенем токсичності, який мало змінюється упродовж тривалого часу. За одночасної наявності декількох джерел різних забрудників може формуватися мозаїчна структура різноякісного забруднення стоячих вод.

Для об'єктивного оцінювання та прогнозування якості води у водних об'єктах, особливо в умовах антропогенного навантаження, необхідно враховувати характер взаємодії водних мас із донними відкладами, який визначається процесами осадження, скаламучування та сорбції.

Для осадження іонів металів, наприклад, основне значення має активна реакція середовища (рН). Інтенсивне утворення осадів відбувається за таких значень рН: для Co^{2+} і Cu^{2+} – 5,3; для Fe^{2+} – 5,5; для Pb^{2+} – 6; для Cd^{2+} – 6,7; для Zn^{2+} – 7; для Hg^{2+} – 7,3. Метали осаджуються у вигляді окисів (ZnO , CuO), гідроокисів ($\text{Zn}(\text{OH})_2$), карбонатів (ZnCO_3), гідрокарбонатів ($\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$), фосфатів ($\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$), сульфідів (CuS) тощо. У результаті зв'язування і осадження концентрації більшості металів у водних масах швидко знижуються за мірою віддалення від джерела забруднення. У прісних водах вже через сотню

метрів від місця скидання істотно падає концентрація свинцю, цинку, хрому, кадмію; дещо далі переносяться нікель, мідь, кобальт. У морській воді зниження концентрації забруднюючих речовин відбувається швидше, ніж у прісній.

Важливу роль для балансу речовин у водоймах грає присутність суспензій. Вони забезпечують адсорбцію на своїй поверхні частини активних забрудників. Адсорбція проявляється у спрямованому перенесенні певної речовини (адсорбата) від розчинника (води) до поверхні твердих часточок (адсорбента). Протилежно спрямований процес – десорбція – на певному етапі приводить систему у рівноважний стан. Інтенсивність і стабільність адсорбції обумовлена ступенем міцності зв'язків адсорбент-адсорбат і наявністю умов, які ослаблюють або посилюють цей зв'язок (ефект скаламучування, рН, Eh, наявність хелатуючих агентів і т.д.).

Зависі, щільність яких перевищує щільність води, під дією сил гравітації опускаються на дно. В основі механізму переміщення речовин на межі вода-дно лежать процеси масопереносу й пасивної дифузії.

Для поширення токсичного забруднення у водоймі важливе значення мають і властивості самих забрудників. Високорозчинні сполуки швидко переходять у водний розчин і поширюються у товщі води. Плівкоутворювальні речовини розтікаються по межі розділу фаз, займаючи значні площі водного дзеркала. Значна частина нафти і нафтопродуктів, хлорорганічних пестицидів, поліхлорованих біфенілів, поліциклічних ароматичних вуглеводнів, фталатів і тощо локалізуються у поверхневій плівці товщиною до десятків мікрон. В океанічних водах концентрація металів у цьому шарі в 10–1000 разів перевищує їх вміст вже в декількох сантиметрах від поверхні.

Трансформація токсичних речовин у водному середовищі здійснюється за рахунок фізичних, хімічних і біологічних процесів.

Серед фізичних процесів найбільш важливе значення має **фотоліз**. Він розпочинається, коли речовина поглинає світло, що викликає перехід електронів її атомів чи молекул на більш високий енергетичний рівень, тобто у збуджений стан. За поглинання кванта видимого світла енергія збудженої молекули стає рівною енергії хімічних зв'язків, тому речовина може зазнати хімічне перетворення. Фотоліз відбувається, головним чином, у поверхневих шарах води. Він ініціюється тільки поглинутим світлом. Швидкість процесу залежить від інтенсивності світла та здатності токсичних сполук його поглинати. Наявність у середовищі фотооксидантів, таких як озон, оксиди азоту, формальдегід, акролеїн, органічні перекиси, суттєво прискорює фотоліз. Продуктами розпаду можуть бути молекули з меншою кількістю атомів, вільні радикали, атоми (фотодисоціація), позитивні або негативні іони (фотоіонізація). Серед токсикантів найбільш чутливими до фотоперетворень є ненасичені ароматичні вуглеводні, поліциклічні ароматичні вуглеводні та хлорорганічні пестициди, оскільки вони активно поглинають енергію світла.

У результаті **фотолізу** можлива деградація та руйнування стійких токсичних забрудників водного середовища, особливо у регіонах з високою сонячною активністю. Проте часто під час фотолізу утворюються нові

речовини, токсичність яких вище, ніж у вихідних сполук. Так фотолітичне перетворення пестициду 2, 4, 5-трихлорфеноксиоцтової кислоти спричиняє утворення дібензопарадіоксину (ПХДД), який є глобальним екополлютантом.

Основна ж кількість трансформацій токсичних речовин у водному середовищі здійснюється в результаті різноманітних хімічних реакцій, найважливішими з яких є гідроліз, окисно-відновні реакції, комплексоутворення.

Гідроліз органічних сполук являє собою розщеплення органічної речовини на дві або більше складових: у присутності кислот відбувається кислотний гідроліз, у присутності лугів – лужний. Гідролітичного розщеплення найчастіше зазнають зв'язки атома вуглецю з іншими атомами (галогенами, киснем, азотом та ін.). Ефірні зв'язки в молекулах, наприклад, фосфорорганічних сполук також піддаються гідролізу, з чим пов'язана помірна стійкість цих речовин у водному середовищі. Завдяки гідролізу можливе існування буферних систем, які здатні підтримувати постійну активну реакцію водного середовища.

Окисно-відновні реакції – це хімічні реакції, які відбуваються із зміною ступеня окиснення атомів, що входять до складу реагентів, і реалізуються перерозподілом електронів між атомом-окисником та атомом-відновником. У процесі окисно-відновної реакції відновник віддає електрони, тобто окиснюється; окисник приєднує електрони, тобто відновлюється, причому будь-яка окисно-відновна реакція являє собою єдність двох протилежних перетворень – окиснення та відновлення, які відбуваються одночасно, без відриву одна від одної. Окисно-відновні процеси надзвичайно поширені. Дихання, кровообіг, обмін речовин у живих організмах, фотосинтез у рослин пов'язані з окисно-відновними реакціями. Під час дихання органічні речовини окиснюються до кінцевих продуктів – вуглекислого газу й води, використовуючи для цього кисень. А під час фотосинтезу вуглекислий газ відновлюється в органічних сполуках, а кисень вивільняється в повітря. Процеси гниття, бродіння, тління також відносяться до окисно-відновних реакцій. Важливе значення окисно-відновних реакцій у водному середовищі полягає у тому, що за їх допомогою постійно відбувається колообіг всіх хімічних елементів, які входять до складу абіотичних і біотичних компонентів водних екосистем. Як низка окисно-відновних реакцій, що забезпечують перехід від одного класу органічних речовин до іншого, може бути представлений генетичний зв'язок різних класів органічних сполук.

Для балансу різних форм металів у водному середовищі важливе значення має комплексоутворення. Утворення комплексів є результатом взаємодії стабільних у звичайних умовах атомів, іонів або молекул за донорно акцепторним механізмом без формування нових електронних пар. Катіон металу виступає у ролі комплексоутворювача, інша частина сполуки – у ролі ліганда. Метал, як центральний атом комплексу, координує навколо себе молекули лігандів, тому такі комплекси часто називають також координаційними сполуками. Ліганди, безпосередньо зв'язані з центральним атомом комплексу, складають його внутрішню координаційну сферу; іони, розташовані за її межами, формують зовнішню координаційну сферу (рис. 35).

Комплекси з максимально можливою кількістю лігандів називають координаційно насиченими.

Комплексоутворювачі, особливо хелатуючі агенти, здатні знижувати концентрації токсичних забрудників у водному середовищі шляхом їхнього зв'язування та седиментації. У зв'язку з цим дуже перспективним напрямом технічних рішень для очищення стічних вод від токсичних речовин, особливо важких металів, виступає застосування синтетичних хелатуючих агентів, наприклад, краун-ефірів, які являють собою макроцикли із етиленових містків та атомів кисню, що в деяких випадках можуть бути замінені атомами сульфуру чи нітрогену і здатні утворювати комплекси за рахунок неподілених електронних пар. У краун-ефірах кількість таких електронних пар велика і всі вони орієнтовані всередину циклу. Такі особливості будови дозволяють використовувати краун-ефіри в якості пасток для важких металів. Змінюючи величину циклу і, відповідно, розмір їхньої внутрішньої сфери, можна «налаштувати» краун-ефіри на вибіркоче поглинання катіонів металів певних розмірів, що дозволяє застосовувати їх для селективного очищення води.

Хімічні сполуки, які формують склад природних вод, а також ті, що різними шляхами потрапляють у водне середовище ззовні, можуть виступати в якості взаємних хімічних модифікаторів – іони металів, наприклад, визначають напрями трансформації пестицидів із різним асортиментом проміжних і кінцевих продуктів перетворення; пероксиди, алкилнітрати та поверхнево-активні синтетичні речовини впливають на процеси перетворення нафтопродуктів тощо.

Фотолітичне й гідролітичне розщеплення у певною мірою знижують токсичність забрудників, але підвищують біодоступність продуктів розпаду. У результаті фотолізу можуть утворюватися і метаболіти підвищеної токсичності порівняно з вихідними компонентами. Високі концентрації у воді хелатуючих агентів, а також підвищення міцності координаційних зв'язків знижують «біодоступність» токсикантів для гідробіонтів. Здатність природних вод зв'язувати іони металів і впливати на їх біодоступність різна і може бути виражена в еквівалентах розчину хелатуючого агента. Мінеральні й органічні суспензії водного середовища за рахунок абсорбційної активності також знижують доступність токсичних забрудників для гідробіонтів.

Різноманітність перетворень токсичних речовин у водних об'єктах приводить до того, що часто не відомо, у якому вигляді забруднююча речовина вступила в контакт з організмом гідробіонтів. Перетворення речовин у водному середовищі – специфічне явище для водної токсикології, яке ускладнює контроль режиму токсичної дії забрудників.

4 Біотрансформація токсичних забрудників за допомогою мікроорганізмів

Абіотична трансформація токсичних речовин, як правило, відбувається повільно. Значно швидше ксенобіотики деградують за участю біоти, особливо мікроорганізмів (головним чином бактерій і грибів). Мікробіологічна трансформація токсичних сполук, що потрапили у водне середовище, може

протікати в різних напрямках (рис. 1.2), приводячи до мінералізації, акумуляції чи полімеризації вихідних реагентів [1-4].

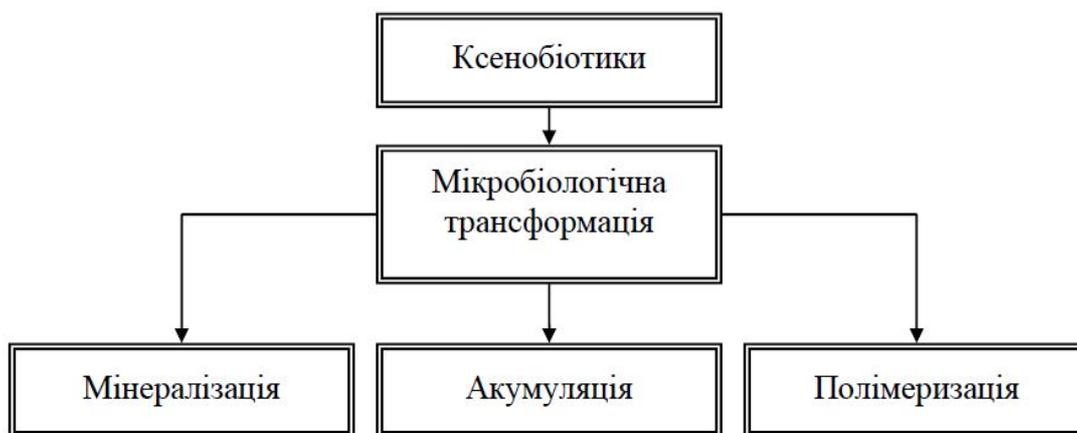


Рисунок 1.2 – Напрями мікробіологічної трансформації токсичних речовин у водному середовищі

Токсичні сполуки, які піддаються повній деградації, тобто мінералізуються з утворенням діоксиду вуглецю (II), води, аміаку, сульфатів і фосфатів, використовуються мікроорганізмами як ростові субстрати і проходять повний метаболічний цикл. Часткова трансформація токсикантів відбувається, як правило, у процесах кометаболізму або співокиснення й не пов'язана з включенням метаболітів у цикли живлення мікроорганізмів. Нарешті, деякі ароматичні вуглеводні та синтетичні полімери взагалі не піддаються біологічній трансформації.

Швидкість і глибина трансформаційних перетворень токсичних речовин мікробіологічним населенням водойм визначається цілим комплексом взаємопов'язаних чинників: структурою та властивостями самих сполук, фізико-хімічними умовами середовища і його біокаталітичним потенціалом, який залежить від характеру мікробного угруповання. Дуже часто для деградації забрудників необхідна ціла серія послідовних мікробіологічних трансформацій за участю декількох видів мікроорганізмів із поєднанням різних типів мікробного метаболізму. Саме завдяки гетерогенності природних мікробних співтовариств ксенобіотики у принципі можуть піддаватися біодеградації, а наявність у них взаємопов'язаних метаболічних шляхів руйнування токсикантів є основою для боротьби із забрудненням. Можливості мікробного населення водойм відносно деградації багатьох токсичних сполук значні.

Так, проведені у водах Дністра [1] дослідження показали, що в мікробних угрупованнях водотоку представлені бактерії-деструктори нафти та нафтопродуктів *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Micrococcus* sp., а восени ще й *Rhodococcus* sp. та *Arthrobacter* sp. Визначення їхнього біодеструктивного потенціалу щодо нафтового забруднення дозволило зробити висновок, що 97 % культур здатні рости на середовищі з нафтою, 100 % – з парафіном, 100 % –

з дизельним паливом, 99 % – із вазеліновим маслом. За біохімічними показниками мікробне населення Дністра можна розділити на 5 груп деструкторів: оксидазоактивні (65 %), каталазоактивні (100 %), ліполітичні (100 %), лецитиназоактивні (89 %), антибіотикочутливі (35 %). Доведено, що за повторного надходження однотипних забрудників у водне середовище адаптаційний період мікроорганізмів до субстрату (забруднюючої речовини) значно скорочується, і відбувається посилена селекція штамів, здатних трансформувати цей субстрат. У результаті природно виникають активні щодо трансформації токсикантів мікробні популяції, здатні зберігатися у середовищі протягом декількох місяців після повної деградації забруднення. За нового надходження токсичної речовини вони відразу її атакують.

За участю мікроорганізмів у водних екосистемах може відбуватися й окисно-відновне перетворення важких металів, зокрема кобальту та хрому, а також металоїдів, наприклад, миш'яку. При цьому аеробними мікроорганізмами забезпечуються процеси окиснення, а анаеробними – відновлення.

Відновлення відбувається в основному у товщі донних субстратів, але може спостерігатися й у водних масах за тривалого та глибокого дефіциту кисню. Вважають, що термодинамічно менш стійкий тривалентний миш'як може існувати у водному середовищі тільки за рахунок мікробіологічного відновлення п'ятивалентного миш'яку. У морському середовищі також постійно відбувається відновлення миш'яку і його метилювання з утворенням монометиларсенової й диметиларсенової кислот, причому швидкість перетворення корелює з первинною продукцією екосистеми. У високопродуктивних екосистемах до 80 % загального миш'яку знаходиться у трансформованих формах. У процесі метилювання миш'яку можуть утворюватися дуже токсичні ди- та триметиларсени, які швидко окиснюються у зовнішньому середовищі до какоділової кислоти. У деяких гідробіонтах миш'як присутній у вигляді арсенобетаїну $\text{CH}_3\text{O}_3\text{As}+\text{CH}_2\text{COO}-$.

За участю мікрофлори в анаеробних умовах активно відбувається метилювання ртуті з утворенням високотоксичних метил- і диметилртуті. Найбільш масове отруєння метилртуттю біогенного походження мало місце серед населення Японії на берегах затоки Мінамото у 50–60-х роках минулого століття. Зі стоками фабрики з виробництва азотних добрив у воду затоки надходила ртуть, яка трансформувалася біотою в метилртуть. Остання концентрувалася у тканинах морських гідробіонтів і риби, які споживалися місцевим населенням. У результаті в людей, які споживали таку рибу, розвивалося захворювання, що характеризувалося складним неврологічним симптомокомплексом, у новонароджених дітей відбувалися вади розвитку. Всього було зареєстровано 292 випадки хвороби Мінамото, 62 з них закінчилися загибеллю людей.

Окрім ртуті, можливе метилювання кадмію, кобальту, міді, хрому, талію, олова, селену.

У перетворенні токсичних речовин активну участь беруть і гідробіонти вищих рівнів біологічної організації, наприклад, молюски, риби, водні ссавці. У

них основні механізми трансформації ксенобіотиків закладені в обмін речовин, при цьому біохімічні процеси перетворення токсикантів чітко скоординовані в просторі та часі, завдяки чому різні процеси, інколи протилежні, здійснюються одночасно, не заважаючи один одному. Це значною мірою забезпечується за рахунок кампартменізації – окремі біохімічні перетворення відбуваються на певних ділянках клітин чи у специфічних органелах клітин, спеціалізованих клітинах, тканинах чи органах. Досить важливим є і те, що перебіг процесів проходить у суворо визначеній послідовності, при цьому кожна попередня реакція створює умови для здійснення наступної. У таких перетвореннях визначальна роль належить ферментам, які забезпечують спряженість трансформацій на метаболічному та енергетичному рівнях, що створює умови для саморегуляції та підтримання гомеостазу живих організмів

5 Шляхи надходження отрут у організми гідробіонтів

Живі організми, у тому числі і всі гідробіонти, більшістю учених розглядаються як концентратори хімічних елементів. Ще В. І. Вернадський у 1926 році нараховував від 17 до 19 хімічних елементів, які можуть акумулюватися в біологічній речовині. За трактуванням М. С. Строганова існує низка хімічних елементів, які виступають обов'язковою складовою живих організмів і відіграють у них специфічну біологічну роль. Дещо пізніше Х. С. Коштоянц відзначав, що із всіх 92-х відомих хімічних елементів у живих організмах зустрічається 60. Наприкінці ХХ століття О. М. Виноградов дійшов висновку, що всі живі організми, їхні тканини та органи містять певну кількість усіх відомих та ще невідомих стабільних і нестабільних хімічних елементів. У зв'язку з цим важливою й достатньо складною проблемою в гідробіології стало виявлення шляхів надходження хімічних елементів в організми гідробіонтів. Вона нерозривно пов'язана з поняттям обміну речовин, під яким у водних організмів розуміють всю сукупність процесів, що відбуваються на молекулярному, іонному та атомарному рівнях за рахунок оформлених кормових ресурсів і за рахунок речовин, розчинених у водному середовищі, або зависей.

Виділяють і два основних шляхи надходження отрут різного походження в організми гідробіонтів: 1) безпосередньо із води у процесі біосорбції через органи дихання та шкіряні покриви – парентеральний шлях та 2) у складі їжі трофічними ланцюгами через травну систему – пероральне живлення [1]. Окрім відзначених вище шляхів деякі дослідники виділяють ще один, незалежний шлях, пов'язаний з поглинанням неорганічних сполук, абсорбованих на частинках зависей. У цьому випадку токсичні речовини, абсорбовані на зважених частинках, надходять до організму гідробіонтів у результаті фільтраційних процесів через травний тракт, де відбувається їхня часткова утилізація за умови зміни активної реакції водного середовища та ферментативної активності клітин.

Більшість науковців нині віддають перевагу процесам біосорбції. Так, за В. В. Метелевим [1-3], через шлунково-кишковий тракт риб надходить тільки

незначна кількість отрут, в основному ж токсичні речовини потрапляють до їхнього організму осмотично.

Слід відзначити, що у більшості досліджень такого роду радіонукліди були складовою частиною молекул неорганічних сполук, і тільки в окремих випадках використовувалися такі органічні речовини, як глюкоза й амінокислоти. Проте, було виявлено, що склад молекул принципово не впливав на результати експериментів. Важливим підтвердженням існування біосорбції токсичних речовин гідробіонтами є встановлений у модельних експериментах з із важкими металами взаємозв'язок між хімічним складом самих живих організмів та середовищем їхнього існування.

Крім того, тіло більшості водних тварин покрите шаром слизу, який відіграє роль мастила та бере участь у осморегуляції та виділенні й також розглядається як високоякісний сорбент. Він на 85–90 % складається з води, а інші його компоненти – нуклеопроїди (18 амінокислот), холестерин, ліпофосфатиди, мінеральні солі, – абсорбувалися ним із води. Така поверхня характеризується високою абсорбційною активністю. Крім того, гідробіонти у водному середовищі виступають у ролі поверхні фази з її електричними потенціалами: мембранним, абсорбційним і фазовим. За рахунок електричних потенціалів та ван дер Вальсових сил на поверхні гідробіонтів виникає вільна енергія, яка може бути перетворена, і як правило, перетворюється на роботу з абсорбції на поверхні тіла гідробіонтів розчинених у середовищі речовин. Це є самовільний процес, спрямований на зменшення вільної енергії фізичної системи і не потребує додаткових енергетичних затрат від біологічних об'єктів. Таким чином, незважаючи на те, що концентрації розчинених у водному середовищі різноманітних речовин, як правило, невисокі та навіть дуже низькі, більшість їх здатні абсорбуватися на поверхні тіла гідробіонтів, концентруючись там до значних величин без затрат енергії живої речовини.

Гідробіонти, які рухаються у воді, завжди виявляються оточеними підвищеними концентраціями органічних речовин і пониженими неорганічних, тому молекули води, які покривають (змочують) тіло гідробіонтів, легше заміщуються органічними сполуками, аніж неорганічними. Таким чином, абсорбція органічних токсичних речовин на поверхні тіла гідробіонтів перебігає інтенсивніше, ніж неорганічних. Проте дослідження шляхів міграції у тіло гідробіонтів органічних екзометаболітів досі спеціально не проводилися, хоча доведено, що зовнішні метаболічні зв'язки між гідробіонтами різних трофічних рівнів досить суттєві. У літературі наявні дані, що серед ідентифікованих речовин, які виділяються водними організмами у середовище їхнього існування, є 13–16 амінокислот, 11 моносахаридів, вітаміни, а також білки, жирні кислоти, полісахариди, нуклеїнові кислоти, сечовина, пуринові й пірамідінові основи.

Оскільки гідробіонти з фізико-хімічної точки зору являють собою досить складне порожнє тіло, то процес охоплює всю товщу тваринних чи рослинних організмів. Весь процес біосорбції токсичних речовин гідробіонтами можна поділити на 3 етапи: 1) абсорбція абсорбату поверхнею покривних тканин і зябер гідробіонтів, які виступають у ролі поверхні фази; 2) абсорбція

абсорбату товщею покривів всього тіла гідробіонтів завдяки наявності міжклітинного простору з послідуною участю кровоносної (для тварин) і провідної (для рослин) систем; 3) взаємодія абсорбату з плазматичними мембранами живих клітин і проникнення завдяки цьому всередину клітин.

У зв'язку з цим накопичення токсичних речовин у організмах гідробіонтів може тривати необмежено довгий час, хоча згідно з теорією абсорбції Люнгмюра і Фрейдліха швидкість її висока, а у більшості випадків миттєва. Це говорить про те, що, перебуваючи у токсичному середовищі навіть дуже короткий проміжок часу, гідробіонти не можуть уникнути ушкоджуючої дії токсичних забрудників, хоча на початкових етапах інтоксикації спрацьовують захисні механізми, компенсуючі ушкодження.

Другорядну роль у надходженні токсичних речовин, у тому числі й іонів металів, з води в організми гідробіонтів науковці відводять шкіряним покривам. Так експериментально доведено, що через шкіряні покриви в організм риб можуть проникати як катіони кальцію, магнію, заліза, цинку, кобальту, стронцію, ітрію, так і аніони сірки, вуглецю, фосфору і тощо.

Отже, водні організми, що здійснюють (на відміну від наземних рослин і тварин) безпосередній обмін речовин із водним середовищем, значною мірою поповнюють із нього баланс життєво необхідних їм хімічних елементів. Проте цим же шляхом до їхнього організму здатні потрапляти і токсичні речовини.

Проте, не можна недооцінювати і шлях надходження хімічних елементів в організми гідробіонтів через шлунково-кишковий тракт. Цей шлях також забезпечує потрапляння у живі організми як біоелементів, так і важких металів, стійких органічних забруднювачів та токсинів як безпосередньо з води, так і у складі кормів.

Із води через шлунково-кишковий тракт токсичні речовини потрапляють у організм, в основному, морських костистих риб, які, як відомо, вимушені пити морську воду, у складі якої і надходить до їхнього організму значна кількість розчинених мінеральних солей. Заслуговують на увагу й дослідження, проведені на прісноводних рибах (дволітках коропа), яким у модельному експерименті щодоби вводили пероральним шляхом (за допомогою зонду в передню частину кишківника) розчин сірчаноокислого цинку в дозах 150, 300 і 450 мкг (у перерахунку на катіон) на 1 кг маси тіла. У них вже після 24-годинної експозиції спостерігалось збільшення вмісту цього біоелемента в тканинах печінки відповідно на 24,8; 36,6 і 39,3 % відносно контролю. Одержані авторами дані свідчать про значний ступінь доступності та засвоюваності мінеральних солей організмом риб за їхнього перорального введення у вигляді розчину.

Більшість гідробіонтів, у тому числі й риби, здатні поглинати мікрочастинки і колоїдні розчини гідроксидів металів (наприклад, заліза) шляхом піноцитозу. Експериментально встановлено, що до контакту з клітинною мембраною метали піддаються активній дії хелатів. Потім епітеліальні клітини залозистого апарату зябер риб захоплюють утворені гідроксиди металів за допомогою піноцитозу. При цьому на початкових етапах метали абсорбуються на поверхні мембран, а потім захоплюються у результаті

утворення внутрішньоклітинного міхурця. Надалі ці піноцитозні міхурці перетравлюються лізосомами з утворенням вторинних лізосом. Не виключається також можливість внутрішньоклітинної компарт-менталізації, за якої метали накопичуються в органелах клітин, наприклад, у мітохондріях або лізосомах.

Інтенсивність надходження різноманітних сполук у клітину і їхній внутрішньоклітинний перерозподіл безпосередньо залежать від швидкості обміну речовин у гідробіонтів. Так, встановлено прямий взаємозв'язок між швидкістю протікання ферментативних реакцій трансформації токсичних речовин і проникливістю клітин для них. Такий взаємозв'язок має місце лише у тому випадку, коли в навколишньому середовищі спостерігається відносно висока концентрація субстратів для відповідних ферментативних реакцій. Відсутність таких умов призводить до того, що в клітинах розпочинає діяти механізм, який забезпечує накопичення речовин із навколишнього середовища, завдяки чому активність ферментів в організмах гідробіонтів може залишатися на досить високому рівні протягом тривалого часу.

6 Біологічна акумуляція токсикантів у водних екосистемах

Далеко не завжди масова загибель гідробіонтів визначається факторами, які раптово втручаються у водні екосистеми (аварійні скиди токсичних речовин, зливові стоки, змиви отрутохімікатів тощо). В умовах незначного, але систематичного забруднення водою токсикантами, навіть у межах їхніх гранично допустимих концентрацій, також можливий розвиток токсичного процесу. У такому випадку ми маємо справу з кумулятивним ефектом [].

Практично всі гідробіонти, як рослинні, так і тваринні організми різної складності організації, здатні тривалий час накопичувати токсичні речовини. У риб отрути акумулюються у печінці, селезінці, нирках, жировій тканині; важкі метали можуть відкладатися у шкірі, кістках, м'язах, зябрах. У молюсків токсиканти накопичуються мантийною порожниною, у нозі та гепатопанкреасі, деякі – у м'язах. У вищої водної рослинності депонування багатьох отрут спостерігається в корінні. Для виявлення місць локалізації токсичних речовин визначають коефіцієнти їхнього розподілу, тобто співвідношення вмісту в різних тканинах.

Акумулюватися здатен будь-який токсичний агент, швидкість виведення якого нижча швидкості його надходження до живого організму.

Існує два основних методи визначення швидкості елімінації отрути з організму гідробіонтів. Один із них полягає у визначенні кількості речовин, які виділяються яким-небудь шляхом (наприклад, нирками або кишечником), другий – у визначенні концентрації отрути у крові протягом певного часу [90].

Швидкість і вираженість акумуляції залежить від фізико-хімічних властивостей речовини, її концентрації, часу дії, швидкості виведення із організму або руйнування в організмі тощо.

Залежно від фізико-хімічних властивостей досліджуваної речовини може мати місце матеріальна або функціональна акумуляція, а в окремих випадках і та, й інша.

Матеріальна акумуляція представляє собою депонування отруйних речовин у певних органах (печінка, селезінка, нирки) або тканинах, що призводить до збільшення їхньої маси. У цьому випадку показник відношення маси органу, наприклад, печінки чи селезінки, до загальної маси тіла, так званий індекс печінки чи селезінки, у разі його відхилення від норми в бік збільшення свідчить про наявність матеріальної акумуляції отруту.

За функціональної акумуляції після кожного надходження отрути до організму зберігається слідова реакція в ураженій функціональній системі, яка, сумуючись з кожною наступною, призводить до прояву токсичного ефекту. Функціональна акумуляція виникає частіше, ніж матеріальна. Більшість клітинних і ензиматичних отрут діє шляхом функціональної акумуляції. Наприклад, фосфорорганічні пестициди, які є ензиматичними отрутами і характеризуються високою токсичністю для риб, за хронічної дії у малих концентраціях можуть призвести до розвитку функціональної акумуляції.

Для того, щоб відбулося гостре отруєння, необхідний поштовх із зовнішнього середовища – стрес-фактор. Таким стрес-фактором може бути різке підвищення температури води, різка зміна режиму течій, а також циклічні сезонні зміни в самому організмі риб, пов'язані з активними витратами енергії, наприклад, нерестові міграції. У цьому випадку відбувається мобілізація внутрішніх енергетичних ресурсів, токсиканти надходять у кров і викликають аутоінтоксикацію (самоотруєння). Чим більший вік має риба, тим більше накопичено токсикантів у її організмі, тому у таких випадках частіше відзначається загибель плідників [1].

Кумулятивний токсикоз може виникати не тільки внаслідок прямого поглинання токсикантів із води. Однією із специфічних особливостей водних екосистем є передання токсикантів трофічними ланцюгами (рис. 1.3) [1].

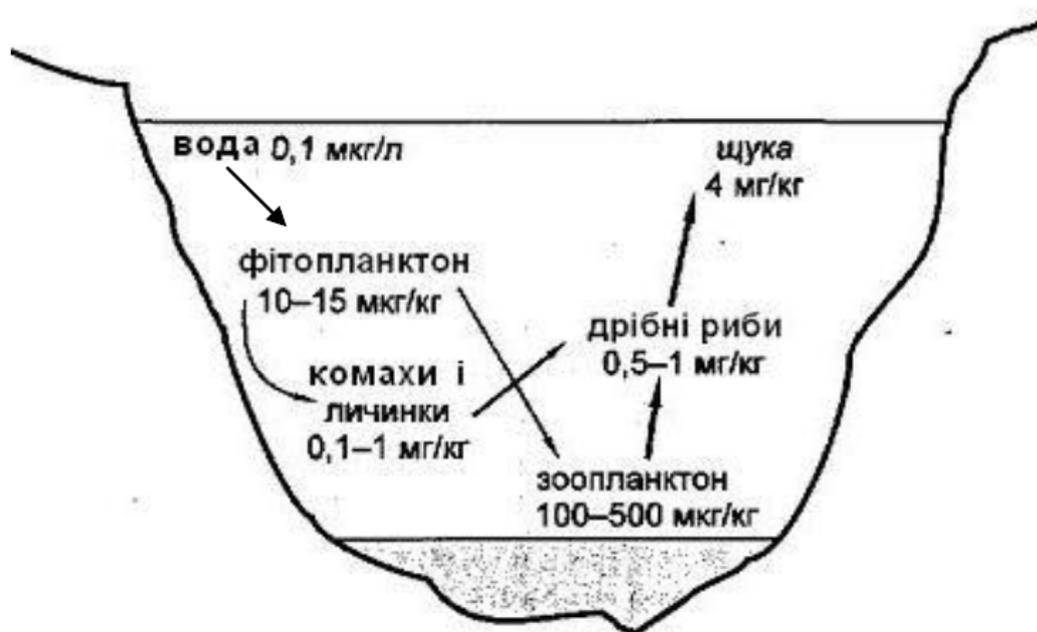


Рисунок 1.3 – Модельна закономірність передачі токсикантів трофічними ланцюгами (на прикладі ртуті)

Найбільш простий трофічний ланцюг: «вода – риба» – типовий для риб-фільтраторів. Риби-бентофаги отримують токсиканти через ланцюг «вода – донні відклади – бентосні безхребетні – риба»; рослиноїдні представники іхтіофауни – через ланцюг «вода – макрофіти (водорості) – риба; хижаки – через ланцюг «вода – планктон – мирні риби – хижаки». Хижаки є кінцевими концентраторами токсикантів і тому найбільш вразливі.

Дослідження, проведені на дніпровських водосховищах і Дунаї показали, що найбільш активними накопичувачами токсикантів і радіонуклідів є хижі риби (судак, щука, окунь, жерех) та бентофаги (лящ, сазан). У цих видів риб чітко проявляються різні захворювання, пов'язані з хронічним отруєнням: порушуються поведінкові реакції, репродуктивні цикли, знижується плодючість, зростає кількість нежиттєздатної й мертвонародженої молоді. Вони частіше інших потерпають від інвазійних та інфекційних хвороб. За досягнення критичного рівня забруднення може спостерігатися масова загибель риб. Хижі та бентосоїдні риби із забруднених водойм представляють загрозу для здоров'я людини за їх споживання. У проміжних трофічних ланках також відбувається на-копичення токсикантів (гіллястовусі рачки-фільтратори акумулюють хлорорганічні пестициди до концентрацій, що перевищують їхній вміст у воді в тисячі разів).

Для кожної ланки трофічного ланцюга характерні певні співвідношення між вмістом токсикантів у вихідному субстраті (воді чи донних відкладах) і їхнім вмістом у кінцевій ланці (рибі) – коефіцієнти накопичення, а також між різними ланками цього ланцюга – коефіцієнти магніфікації. Найбільший градієнт існує між вмістом токсикантів у водних масах і донних відкладах. Коефіцієнти донної акумуляції можуть сягати 100 – 10000, тобто вміст токсикантів у донних відкладах може бути вище, ніж у воді тієї ж водойми у 100, 1000, 10 000 разів. Найчастіше це пов'язано з тим, що стічні води мають більшу питому вагу й рухаються у придонних шарах, а різні токсичні агенти, які надходять у водойму, абсорбуються на завислих частинках. Такі процеси особливо чітко проявляються в річках з водою, що характеризується високим ступенем каламутності, наприклад, у Дунаї. Завислі частинки осідають на дно під дією сил гравітації і привносять ці токсиканти в донні відклади. Характерними ознаками кумулятивних токсикозів у риб є крововиливи у життєво важливі органи (мозок, зокрема довгастий, серце, печінку, нирки, селезінку). Регулярні патолого-анатомічні й гістопатологічні дослідження печінки риб, особливо хижаків і бентофагів, можуть дати інформацію про хронічне забруднення водойм, більш цінну, ніж цілий комплекс хімічних аналізів, що проводяться епізодично і не враховують реальної небезпеки забруднюючих речовин.

Систематичний моніторинг токсикологічних станів акваторій і заходи зі зниження рівнів забруднення водойм токсикантами різних класів дозволяють попереджати розвиток кумулятивних токсикозів. Для встановлення біологічних нормативів скидання промислових стічних вод у рибогосподарські водойми необхідно мати на увазі можливість акумуляції тієї чи іншої групи речовин або обумовлених ними токсичних ефектів і робити відповідні поправки для ГДК.

Контрольні питання

1. Що впливає на інтенсивність розмноження мікробів у воді?
2. Чим обумовлена автохтонна та аллохтонна мікрофлора водойм?
3. Які фактори впливають на самоочищення води у водоймах?
4. Охарактеризуйте основні шляхи міграцій та напрями трансформації токсичних речовин у водному середовищі.
5. Як здійснюється трансформація токсичних речовин у водному середовищі?
6. Як здійснюється біотрансформація токсичних забрудників за допомогою мікроорганізмів?
7. Який механізм поглинання токсичних речовин гідробіонтами?
8. Як здійснюється біологічна акумуляція токсикантів у водних екосистемах?

Лекція 2 Морфологія мікроорганізмів

1. Поділ мікроорганізмів на прокариотів і еукариотів.
2. Будова клітини прокариотів. Основні структури.
3. Розподіл прокариотів за будовою клітинної стінки.
4. Процеси харчування мікробів.

1 Поділ мікроорганізмів на прокариотів та еукариотів.

Із відкриття мікроорганізмів А. Левенгуком і до XIX ст. їх розглядали як найдрібніші істоти тваринного походження. Тільки в другій половині XIX ст. німецький біолог Е. Геккель (1834-1919 рр.) дійшов висновку, що мікроорганізми істотно відрізняються від усіх відомих раніше представників царств тварин і рослин, і запропонував їх виділити в окреме царство *Protista* (протисти, першої істоти). На сьогодні немає загальноприйнятої теорії або уявлення про загальну систему живого світу. Згідно з однією точкою зору існує тільки два царства — *Plantae* (рослини) і *Animalia* (тварини), мікроорганізми розглядаються як примітивні рослини або тварини і відповідно входять до складу одного з цих двох царств. Згідно з другою точкою зору, за Е. Геккелем, мікроорганізми виділяють у самостійну групу за ознакою малих (видимих тільки за допомогою відповідних приладів) розмірів і пов'язаних із цим специфічних методів вивчення.

Із кінця XIX ст. вже були дані про неоднорідність мікроорганізмів, зокрема про відмінності в будові їх клітин, тому їх розділили на вищі й нижчі протисти. Найпростіші (одноклітинні тварини), мікроскопічні водорості (крім синьо-зелених) і мікроскопічні гриби (цвілі, дріжджі) були віднесені до вищих, а всі бактерії та синьо-зелені водорості (або ціанобактерії) — до нижчих протистів. Цей розподіл було проведено відповідно до типу клітинної організації — прокариотної або еукариотної. Нижчі протисти мають прокариотну будову клітин, а вищі — еукариотну.

Чим відрізняються прокаріотний і еукаріотний типи клітинної організації?

Прокаріоти (від грец. *Karyon* – ядро) – двоядерні найпростіші, одноклітинні форми життя, що не мають ядерної мембрани і високоорганізованих органел. **Прокаріотна клітина** має, як правило, цитоплазматичну мембрану, що утворює одну внутрішню порожнину, в якій розташовується нуклеоїд (ДНК), не відокремлений від цитоплазми мембраною. У цитоплазмі можуть бути функціонально спеціалізовані структури, але вони не відокремлені від неї мембранами, тобто не утворюють замкнутих порожнин. Рибосоми прокаріотної клітини 70S-типу.

Еукаріотна клітина має на відміну від прокаріотної вторинні порожнини. Ядро, мітохондрії, хлоропласти й інші клітинні органели присутні тільки в еукаріотній клітці. Зовнішні мембрани цих органел (ядерна, мембрана мітохондрій тощо) утворюють вторинні порожнини. Рибосоми – еукаріотні клітини 80S-типу.

2 Будова прокаріотної клітини

Основні структури бактеріальної клітини представлені на рисунку 2.1: клітинна стінка, цитоплазматична мембрана, цитоплазма з включеннями і ядро, зване нуклеоїдом [4-7].

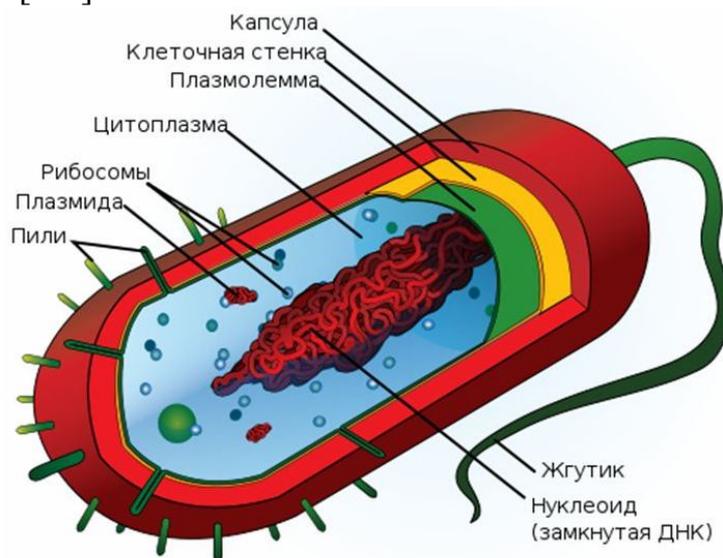


Рисунок 2.1 – Будова прокаріотної клітини

Бактерії можуть мати і додаткові структури: капсулу, мікрокапсулу, слиз, джгутики, фімбрії, пілі; деякі бактерії здатні утворювати спори.

Цитоплазма – це складна колоїдна система, в ній немає ендоплазматичного ретикулума та інших органел, властивих еукаріотам, вона нерухома. Цитоплазма бактерій займає основний об'єм клітини і складається з розчинних білків. У деяких видів є мікротрубочки – рапідосоми, схожі з мікротрубочками найпростіших, і три типи органел, оточених білковими мембранами: газові бульбашки (у водних прокаріотів – ціанобактерій);

хлоробіум-везикули (апарат фотосинтезу у фотосинтезуючих); карбоксисоми, які містять фермент карбоксидісмутазу, необхідний для фіксації CO₂ в процесі фотосинтезу.

У цитоплазмі знаходиться ядерний апарат – генофором (нуклеоплазма), який не відокремлений мембраною. Окрім хромосоми є плазмідни, іноді цілий комплекс. Хромосома і плазмідни пов'язані зі специфічними рецепторами мембрани цитоплазми. У ній знаходяться рибосоми і всі компоненти білоксинтезуючої системи.

У цитоплазмі містяться різні макромолекули (РНК, амінокислоти, нуклеотиди та ін.), можуть бути мезосоми, які беруть участь у енергетичному обміні, формуванні міжклітинної перегородки під час розподілу, спороутворення тощо, включення: крапельки нейтральних ліпідів, воску, сірки, полісахариди та поліфосфати (волютин). Вони накопичуються за надлишку поживних речовин у навколишньому середовищі і виконують роль запасних речовин для живлення та енергетичних потреб. Зерна волютину виявляються в дифтерійної палички у вигляді інтенсивно забарвлених полюсів клітини.

Цитоплазматичні елементи бактерій незмінно включають прокаріотичну хромосому й рибосоми. Хромосома – зазвичай одна велика молекула ДНК, замкнута в кільце, яка вільно лежить в цитоплазмі. Прокаріоти іноді мають невеликі позахромосомні циклічні ДНК, які називають плазмидами.

Генетичний апарат, або нуклеоїд, є еквівалентом ядра в бактерій. У прокаріотів це більш компактне утворення (діаметром близько 2 нм), що займає центральну область у цитоплазмі і не відокремлена від неї мембраною.

ДНК прокаріотів має істотні відмінності в структурній організації від еукаріотних ДНК: нуклеоїд бактерій не має ядерної оболонки, ядерця й основних білків (гістонів).

Вся ДНК клітини (і хромосомна, і плазмідна) утворює геном клітини. Протягом зростання клітини і її ділення прокаріотна хромосома копіюється звичайним напівконсервативним способом, перш ніж відбудеться її розподіл по дочірнім клітинам. Проте процеси мейозу та мітозу у прокаріот відсутні. Реплікація і сегрегація (поділ) прокаріотної ДНК координуються мембраною, можливо мезосомами. Зазвичай у бактеріальній клітці міститься одна хромосома, але часто в експоненціально зростаючій культурі кількість ДНК може досягати маси 3, 4, 8 і більше хромосом. Нерідко в клітинах під час на них певних факторів (температури, рН середовища, іонізуючого випромінювання, солей важких металів, деяких антибіотиків та ін.) відбувається утворення безлічі копій хромосоми. У разі усунення впливу цих факторів, а також після переходу в стаціонарну фазу в клітинах, як правило, виявляється по одній копії хромосоми.

Нуклеоїд виявляється у світловому мікроскопі після забарвлення специфічними для ДНК методами за Фельгеном або Гімзом.

На електронних мікроскопічних фотографіях ультратонких зрізів бактерій нуклеоїд має вигляд світлих зон із фібрилярними ниткоподібними структурами ДНК.

Джгутики (від англ. flagella – джгуттик) бактерій являють собою тонкі нитки, що беруть початок від цитоплазматичної мембрани; довжина їх більше, ніж довжина клітини. Вони визначають рухливість бактерій, дозволяють їм плавати в рідких середовищах. Товщина джгутиків 12–20 нм, довжина 3–12 мкм. Число джгутиків і їх розташування в бактерій різних видів варіює від одного полярного (монотріх) у холерного вібріона (рис. 2) до десятків і сотень джгутиків, які відходять за периметром бактерії (перітріх), у кишкової палички, протей та ін. Лофотрихи мають пучок джгутиків на одному з кінців клітини, амфітріхі – по одному джгуту або пучку джгутиків на протилежних кінцях клітини. Завдяки обертанню джгуту відбувається спрямований рух бактерій.

Фімбрії або війки (від лат. fimbria – бахрома) – ниткоподібні утворення, більш тонкі і короткі (3–20 нм x 0,3–10 мкм), ніж джгутики. Фімбрії відходять від поверхні клітини і складаються з білка, так названого піліна. Біологічне значення фімбрій полягає в тому, що з їх допомогою бактерії прикріплюються тільки до певних поверхонь. Серед фімбрій різного типу виділяють фімбрії, відповідальні за адгезію, тобто прикріплення бактерії до вражаємої клітини (наприклад пілі загального типу – common pili); фімбрії, відповідальні за харчування, водносолевий обмін; статеві (F-пілі), або кон'югаційні пілі. Пілі загального типу численні й досягають декількох сотень у одній клітці. Вони є основними чинниками патогенності у хвороботворних бактерій, тому що бактерії ними прикріплюються до чутливих клітин і заселяють їх. Крім того, вони перешкоджають фагоцитозу.

Капсули, слизові шари і чохла

Деякі бактерії (пневмококи, клебсієли та ін.) утворюють капсулу – слизове утворення, міцно пов'язане з клітинною стінкою, що має чітко окреслені зовнішні межі. Капсула помітна в мазках-відбитках з патологічного матеріалу, її товщина 0,2 мкм. У чистих культурах бактерій капсула утворюється рідше. В її утворенні бере участь цитоплазматична мембрана. За хімічним складом розрізняють капсули, що складаються з полісахаридів, що містять аміноцукри, і капсули поліпептидної природи, наприклад у бацили.

Виявлення капсул здійснюється методом негативного контрастування. *Капсула* гідрофільна, вона перешкоджає фагоцитозу бактерій сибірки.

Багато бактерій утворюють *мікрокапсулу* – слизове утворення, що виявляється під час електронної мікроскопії. Від капсули слід відрізнити *слиз* – мукоїдні екзополісахариди, що не мають чітких зовнішніх меж. Бактеріальні екзополісахариди беруть участь у адгезії (прилипанні до субстратів), їх ще називають гликокаликсом.

Крім того, що бактеріальні екзополісахариди синтезуються бактеріями шляхом секреції їх компонентів, існує й інший механізм їх утворення – під час позаклітинних ферментів на дисахариди.

Капсула та *слиз* захищають бактерії від пошкоджень, висихання, оскільки вони гідрофільні та добре пов'язують воду, перешкоджають дії захисних факторів макроорганізму й бактеріофагів і можуть запасати поживні речовини.

Чохли – це більш складні структури. Зазвичай вони мають і більш складний хімічний склад, наприклад, у *Sphaerotilus natans* чохол містить:

цукрів – 36 %, гексозаміна – 11 %, білка – 27 %, ліпіда – 5,2 %, фосфору – 0,5 %.

Капсули, слизові шари і глікокалікс, як відомо, визначають специфічні властивості поверхні бактеріальних клітин, і деякі компоненти цих структур є специфічними антигенами. Капсули також захищають бактерії від хижих найпростіших і від дії антибактеріальних агентів тваринного (фагоцити, антитіла) або рослинного (мікроцини) походження. Капсули деяких ґрунтових бактерій запобігають їх висушуванню.

Клітинна стінка. Це важливий і обов'язковий структурний елемент більшості прокаріотних клітин, який розташовується під капсулою чи слизовим чохлам або безпосередньо контактує з навколишнім середовищем. На частку клітинної стінки доводиться від 5 % до 50 % сухої речовини клітини. Це міцна, пружна структура, що служить механічним бар'єром між протопластом і зовнішнім середовищем, що надає клітинам певну властиву їм форму і підтримує високий осмотичний тиск у клітині.

Концентрація солей у клітині, як правило, набагато вища, ніж у навколишньому середовищі, і тому існує велика різниця в осмотичному тиску. Стінка механічно захищає клітину від проникнення в неї надлишку води, тобто стримує високий осмотичний тиск. Вона бере участь у процесі поділу клітини і транспорті метаболітів.

3 Розподіл прокаріотів за будовою клітинної стінки.

Клітинна стінка прокаріотів різко відрізняється від такої у еукаріот як за будовою, так і за хімічним складом. Вона містить специфічні полімерні комплекси, які відсутні в інших структурах клітини. Хімічний склад і будова клітинної стінки постійні для певного виду і є важливою ознакою під час ідентифікації.

Залежно від будови клітинної стінки прокаріоти, що відносяться до бактерій, діляться на дві великі групи. У 1884 р. датський вчений запропонував метод забарвлення (згодом цей метод стали називати «забарвлення за Грамом»), за яким бактерії поділяються на **грампозитивні** (синьо-фіолетовий) і **грамнегативні** (червоний колір).

Якщо фіксовані бактерії забарвити спочатку кристалічним фіолетовим, а потім йодом, то утворюється забарвлений комплекс (генціановий фіолетовий у комплексі з йодом). Залежно від будови клітинної стінки за подальшої обробки спиртом цей комплекс або утримується, або вимивається. Якщо бактерії залишаються із синьо-фіолетовим забарвленням, це свідчить, що обробка за Грамом мазка бактерій спиртом викликає звуження пор у пептидогліканов і тим самим затримує фарбу в клітинній стінці. Тобто бактерії забарвлюються **грампозитивно**.

Навпаки, **грамнегативні** бактерії після впливу спиртом втрачають барвник, знебарвлюються і під час обробки фуксином фарбуються в червоний колір внаслідок меншого вмісту пептидоглікану (1–10 % маси клітинної стінки). Клітинні стінки грампозитивних та грамнегативних бактерій різко різняться за хімічним складом і ультраструктурою.

У грампозитивних бактерій клітинна стінка товща (від 20 до 80 нм), ніж у грамнегативних, і пептидоглікан (синоніми «муреїн», «мукопептид») становить основну масу її речовини (від 40 % до 90 %). Під електронним мікроскопом вона виглядає як гомогенний електронно щільний шар.

Функції клітинної стінки прокариотів численні, різноманітні і дуже важливі для клітини:

- механічний захист клітини від впливу навколишнього середовища;
- підтримання її зовнішньої форми;
- забезпечення можливості існування в гіпотонічних розчинах;
- транспорт речовин.

4 Процеси живлення в мікробів.

Мікроби не мають спеціальних органів травлення. Всі необхідні для їхнього життя речовини всмоктуються поверхнею бактеріальної клітини. Продукти харчування поглинаються клітиною, а відпрацьовані речовини (продукти обміну речовин) виділяються усією поверхнею клітини назовні.

Схематично процес живлення можна представити таким чином: бактеріальна клітина в момент акту харчування випускає із себе ферменти, які сприяють розчиненню поживних речовин, після чого клітина всмоктує їх за рахунок осмотичного тиску. Отримана їжа синтезується у вигляді білків, жирів і вуглеводів. Одна частина їх йде на зростання клітини, а інша витрачається в процесі дихання. Речовини, які повністю не використовуються, виділяються кліткою назовні. Продукти обміну речовин деяких мікробів, що виділяються в зовнішнє середовище, є для людини отруйними і називаються токсинами.

За типом харчування мікроби відрізняються великою різноманітністю. Залежно від роду їжі все бактерії можна розділити на три категорії:

1. **Прототрофи** – використовують в їжу неорганічні хімічні речовини (залізо, водень, азот, сірку).
2. **Метатрофи** – використовують в їжу органічні речовини.
3. **Паратрофи** – використовують в їжу живий білок (кістковий мозок, жовч, слизові оболонки очей і статевих органів). До цієї групи належать всі кхвороботворні мікроби.

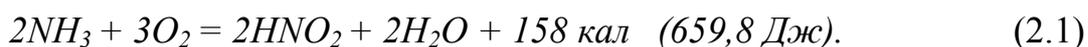
Відносно засвоєння вуглецю мікроорганізми поділяються на два види: автотрофи і гетеротрофи.

Автотрофи – асимілюють вуглець із вуглекислоти або її солей за допомогою фотосинтезу (поглинання світлової енергії) або хемосинтезу.

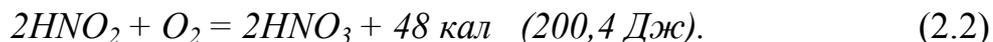
В очисних спорудах використовують лише хемосинтезуючі автотрофні організми, тобто бактерії, які отримують енергію, необхідну для засвоєння вуглецю, шляхом окиснення однієї або декількох мінеральних сполук.

До автотрофів відносяться:

– **Нітрифікуючі бактерії**, що окиснюють азот у амонійних сполуках в азотисті й азотнокислі солі. Процес нітрифікації відбувається в дві фази. Збудники першої фази – бактерії роду *Nitrosomonas*, що окиснюють аміак у азотну кислоту:



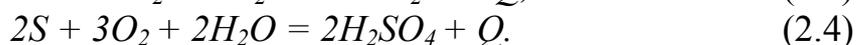
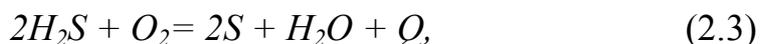
Енергія, що виділяється, витрачається на розвиток нітрифікаторів першої фази і засвоєння ними вуглецю з вуглекислоти. Збудники другої фази – бактерії роду *Nitrobacter*, окислюють азотисту кислоту в азотну:



– **Сірчані бактерії**, що перероблюють неорганічні (сірководень, тіосульфати, сульфіти, сірку) сполуки. Сірчані бактерії поділяються на три групи:

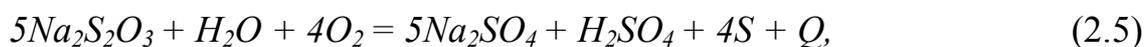
1) фотосинтезуючі сірчані бактерії – пурпурні й зелені. Вони містять хлорофіл і здатні проводити фотосинтез. В очисних штучних спорудах ця група, як правило, не зустрічається;

2) безбарвні нитчасті сірчані бактерії – ця група окиснює сульфіди до сульфатів:

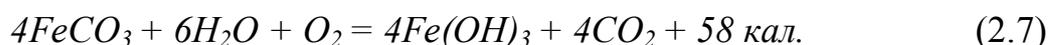


Частина енергії, що виділяється при цьому, використовується бактеріями в процесі асиміляції вуглекислоти. В очисних спорудах для очищення побутових стічних вод використовують бактерії цієї групи *Beggiatoa* і *Thiothrix*;

3) тіонові бактерії, що окиснюють сірководень, сірку, тіо-та тетрасполуки сірки. До цієї групи належать паличкоподібні форми, що не утворюють спор, роду *Thiobacillus*. Енергія, що виділяється в процесі окиснення сполук сірки, використовується ними для засвоєння вуглецю з вуглекислоти:



До автотрофів належать також залізобактерії. Вони поглинають із докілья розчинені у воді закисні солі заліза і перетворюють їх на гідрат окислу заліза:



Енергія, що виділяється при цьому, використовується бактеріями для асиміляції вуглецю. Залізобактерії в очисних спорудах зустрічаються у виняткових випадках.

Гетеротрофи. Більшості бактерій властивий гетеротрофний тип харчування. Ці організми мають потребу в готових органічних сполуках. Так, в якості джерела вуглецю багато мікробів використовують різні вуглеводні, органічні кислоти, спирти, вуглеводи, білки та ін. з'єднання. Готові органічні сполуки необхідні гетеротрофам для покриття енергетичних потреб і синтезу нових вуглецевих з'єднань, що складають тіло зростаючого організму. Деякі організми здатні розвиватися лише за рахунок специфічної органічної речовини, наприклад, целюлози. Для них клітковина є єдиним джерелом вуглецю. Такі організми називаються субстрат-специфічними бактеріями.

Під час очищення стічних вод гетеротрофним бактеріям належить головна роль у руйнуванні органічних речовин, що містяться у воді.

Групу гетеротрофних патогенних мікробів називають **сапрофіти** (від грец. *Sapros* – гнилий і *phytos* – рослина).

Контрольні питання

1. Харчування мікробів.
2. У чому подібність і відмінність прокаріотів і еукаріотів?
3. Охарактеризуйте основні структури бактеріальної клітини.
4. Наведіть класифікацію мікробів за типом харчування.
5. За якою ознакою відбувається розподіл бактерій на грампозитивні та грамнегативні?
6. Автоторофи (нітрифікуючі, сірчані, залізобактерії).
7. У чому сутність гетеротрофного типу харчування мікроорганізмів?

Лекція 3 Загальна характеристика основних груп мікроорганізмів

1. Класифікація мікроорганізмів
2. Віруси, їх будова і хімічний склад
3. Будова бактерій і рикетсій розмноження бактерій

1 Класифікація мікроорганізмів

Мікроби поділяються на дві великі групи. До першої належать ті, які харчуються різними органічними і неорганічними речовинами. Мікроби цієї групи називаються **апатогенними**. Із їх допомогою здійснюються всі процеси очищення води на очисних спорудах, а також відбувається мінералізація органічних речовин у водоймах [8-11].

Тому знання умов життєдіяльності мікробів цієї групи необхідне для того, щоб розібратися в технології біологічного очищення води та керувати роботою очисних споруд.

До другої групи входять мікроби, що знаходяться в організмах тварин і рослин, тобто використовують в їжу живих істот. Мікроби цієї групи називаються **патогенними**. Вивчення умов їх існування сприяє попередженню виникнення епідемій, оскільки багато захворювань можуть передаватися через воду.

В очисних спорудах і побутових стічних водах зустрічається безліч живих істот. Мікросвіт активного мулу, біоплівки стічних вод не можна розглядати виключно як світ мікроорганізмів.

До мікроорганізмів належать низькоорганізовані одно- або багатоклітинні представники рослинного (**мікрофлора**) і тваринного світу (**мікрофауна**). Особливу групу мікроорганізмів складають **ультрамікроби** (віруси і фаги), що є неклітинними формами живих організмів. Найчастіше в природних і стічних водах зустрічаються такі групи мікроорганізмів:

- 1) ультрамікроби (віруси і фаги);
- 2) бактерії;
- 3) актиноміцети;
- 4) гриби;
- 5) водорості;
- 6) найпростіші;
- 7) коловертки.

Розглянемо відмітні ознаки основних груп мікроорганізмів.

2 Віруси, їх будова і хімічний склад

Віруси – це мікроорганізми, які не мають клітинної будови. Розміри структурних одиниць вірусів (віріонів) коливаються від 10 до 300 нм. До складу віріонів входять молекули рибонуклеїнової (РНК) або дезоксирибонуклеїнової (ДНК) кислот, оточені білковою оболонкою. Віруси мають різноманітну форму: кубічну, сферичну, паличкоподібну та ін. Розмноження вірусів здійснюється простим поділом або більш складним шляхом, але тільки всередині клітин живого організму. Для їх репродукції необхідна нуклеїнова кислота.

Таким чином, віруси не є самостійними організмами, для їх репродукції потрібні живі клітини. Віруси характеризуються специфічністю дії, тобто окремі групи вірусів вражають певні живі організми.

Віруси розмножуються в клітині господаря, викликають її загибель, потім вражають сусідні здорові клітини, таким чином руйнуючи цілі комплекси клітин. Саме за такими вогнищами уражень в тканинах (некрози) розпізнають присутність вірусів.

У воді найбільш часто зустрічаються *ентеровіруси*, що розвиваються в травному тракті людини і тварин. Віріони ентеровірусів мають малі розміри (17–32 нм). Вони складаються з молекули РНК (20–30 %) і білкової оболонки. Ентеровіруси стійкі до висушування, можуть утворювати кристали кубічного типу симетрії.

Особливу групу вірусів представляють паразитичні форми мікроорганізмів – *фаги*. Фаги, що вражають бактерії, називаються бактеріофагами, актиноміцетів – актинофагі, грибів – мікофагі, водоростей – альгофаги. Фаги мають булавоподібну форму. У них потовщена частина над головою, а хвостова звужена. Розміри бактеріофагів варіюють у межах від 50 до 100 нм.

Адсорбуючись на поверхні клітини бактерії, фаги виділяють фермент, що сприяє розчиненню оболонки, після чого молекули РНК і ДНК фагів надходять в клітину. При цьому відбувається зміна обміну речовин, яка полягає в тому, що замість речовини клітини йде утворення речовини фага. Через кілька годин оболонка клітини розривається, і в зовнішнє середовище надходить велика кількість нових фагів (сотні й навіть тисячі).

Навряд чи існують бактерії, для яких за досить ретельних пошуків не можна було б знайти відповідних бактеріофагів. Фаги вражають тільки певний вид або близькі до нього мікроорганізми, тобто мають вибірковість дії. Розрізняють фаги *E. coli*, *Salmonella* тощо. Ця властивість бактеріофагів дозволяє використовувати їх у якості санітарно показових мікроорганізмів.

Для індикації певного виду бактерій у досліджувану воду поміщають невелику кількість певного виду бактеріофага і через деякий час визначають зміну числа бактеріофагів у певному об'ємі рідини – *титр фага*. Зростання цього показника вказує на присутність у воді певного виду бактерій.

Бактеріофаги зустрічаються у воді водойм, у стічних водах, ґрунті, тобто там, де живуть супутні їм види мікроорганізмів. Бактеріофаг знаходиться в водоймах та є одним із потужних факторів їх самоочищення.

За відсутності необхідних для живлення бактеріофага мікробів він поступово гине. Відносно високих температур бактеріофаг нестійкий, низькі температури він витримує. До різних дезінфікуючих хімічних речовин бактеріофаг більш стійкий, ніж мікроби, якими він харчується.

3 Будова бактерій і рикетсій

Проміжне становище між вірусами і бактеріями займають **рикетсії**, названі на честь *Рикетса*, який вперше описав збудника хвороби плямиста лихоманка [1, 12].

Бактерії кулястої або еліпсоїдної форми називаються коки. Серед них є шість різновидів, що відрізняються порядком розташування клітин (рис. 3.1). Якщо після поділу клітини відходять одна від одної, то утворюються поодинокі коки (*мікрококи*).

Під час розподілу, що відбувається в одному напрямку, коки можуть залишатися з'єднаними попарно, утворюючи *диплококи*, або ланцюжки клітин – *стрептококи*.

При ділення клітин у двох взаємно перпендикулярних напрямках відбувається утворення груп клітин, що відрізняються щільною упаковкою – *сарцин*.

Якщо ж поділ клітин йде безладно, то утворюються групи бактерій, що нагадують за зовнішнім виглядом виноградне гроно, – *стафілококи*.



Рисунок 3.1 – Морфологічні типи бактерій

1 – мікрококи; 2 – диплококи; 3 – стрептококи; 4 – тетракоки; 5 – сарцини;
6 – стафілококи; 7 – палички; 8 – вібріони; 9 – спірили; 10 – спірохети

Покручені бактерії відрізняються кількістю витків. Бактерії у вигляді злегка вигнутих паличок (вид коми; до 1/4 витка) називаються **вібріонами**. Із одним або декількома (4–6) витками – це **спірили**; довгі тонкі нитки з великою кількістю дрібних завитків – **спірохети**.

Поряд із типовими формами бактерій існують мікроорганізми, що відрізняються від них деякими ознаками.

Серед бактерій багато рухливих форм. Пересування бактерій здійснюється або у вигляді повзучих рухів, або шляхом різних коливань всього тіла, або за допомогою ниткоподібних органів – **джгутиків**. Джгутики мають більшість спірилл, спірохет, вібріонів (рис 3.2). Залежно від розташування джгутиків мікроорганізми поділяються на три групи: монотрихи (один джгутик), лофотрихи (пучок джгутиків на одному кінці клітини) і перетрихі (джгутики розташовані по всій поверхні тіла клітини).

Розмір і вага бактеріальних клітин мізерно малі. Бактерія середнього розміру важить всього $4 \cdot 10^{-12}$ г. Довжина більшості бактерій не перевищує 1–5 мікрон, а ширина становить 0,5–1 мікрон (1 мікрон = 10^{-6} м).

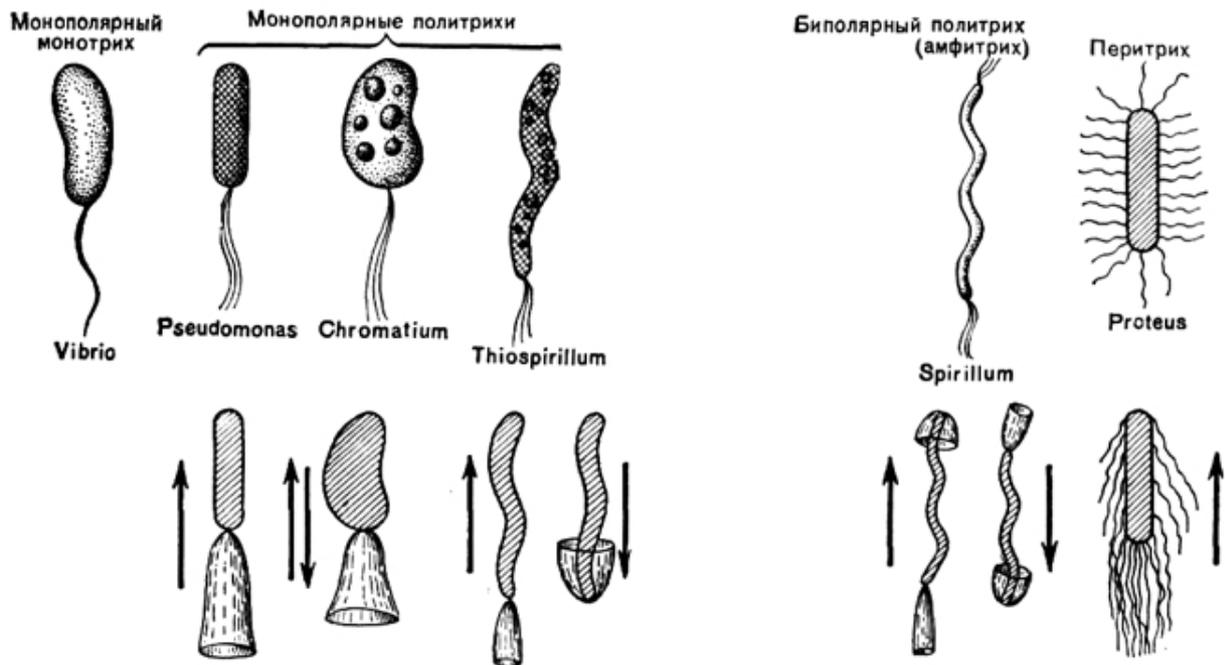


Рисунок 3.2 – Основні типи розташування джгутиків і типи руху бактерій

Бактерії проявляють властивість **поліморфізму**, тобто різноманіття форми і розмірів для одного і того ж виду. Форма бактеріальних клітин може змінюватися під впливом зміни умов навколишнього середовища (температура, рН, режим харчування та ін.).

Бактеріальна клітина має складну будову: вона складається з протоплазми, ядерної речовини, різних за хімічним складом включень і оболонки. Зовнішній шар вмісту клітини – цитоплазми ущільнений і утворює трьохшарову цитоплазматичну мембрану, що складається з внутрішнього ліпідного шару (жирового) і зовнішніх шарів – білкових. Цитоплазматична

мембрана примикає до оболонки клітини. Вона характеризується виборчою проникністю відносно різних сполук і регулює осмотичне перенесення речовин у клітку і з неї. У мембрані цитоплазми зосереджені системи, що каталізують енергетичні процеси. Зовнішня оболонка клітини щільна, але еластична, що сприяє збереженню певної форми бактерій.

Більшість видів бактерій не мають відособленого ядра. Ядерна речовина, представлена ДНК, у них не відокремлена від цитоплазми й утворює нуклеотид (блоки, з яких синтезуються нуклеїнові кислоти). Транспортування речовин, необхідних для життєдіяльності клітини, і відведення продуктів обміну здійснюються особливими каналами і порожнинами, відокремленими від цитоплазми мембраною, що має таку ж саму будову, як і цитоплазматична. Це структурне утворення називається *ендоплазматичною мережею* (ретикулум).

Таким чином, до складу бактеріальної клітини входить 75–85 % води і 25–15 % сухої речовини. Основна маса води знаходиться в зв'язаному стані. Суха речовина бактеріальної клітини складається з органічних речовин (90 %), 10 % припадає на частку неорганічних речовин (зольні елементи).

Органічна фракція відносно до сухої речовини клітини містить 45–55 % вуглецю, 7–15 % азоту, 29–30 % кисню і 6–8 % водню. Це білки, жири і вуглеводи.

Неорганічна фракція включає фосфор, калій, натрій, магній, сірку, кальцій, залізо. Інші елементи знаходяться в дуже малих концентраціях. Це так звані мікроелементи, до них належать хлор, марганець, цинк, молібден, бром, хром, кобальт та ін. Зміст мінеральних речовин у клітині бактерії залежить від її віку, виду організму й умов існування.

Всі основні сполуки, що входять до складу тіла бактерії, повинні бути і в складі живильного середовища. Без наявності хоча б одного з них або зовсім не буде відбуватися зростання бактерій, або воно буде дуже низьким. Біохімічні процеси, що протікають в організмі бактерій, відбуваються за участю ферментів – ензимів. Ферменти синтезуються живими клітинами організмів і мають високу активність. Разом із тим ферменти нестійкі: за несприятливих умов середовища вони втрачають активність і руйнуються.

4. Розмноження бактерій

У бактерій немає статі. Це істоти одностатеві й розмножуються простим поділом клітини. Швидкість розмноження залежить від низки умов і може бути різною. За безперервного припливу поживних речовин і видалення продуктів обміну клітина ділиться кожні 20–30 хвилин. Час, необхідний для завершення поділу клітини, називається *часом генерації*. Через 24 години кількість бактерій повинна досягти астрономічних цифр. Але в природних умовах бактерії рідко можуть розмножуватися без перешкод. Недостача їжі, вологи, світла, тепла й боротьба між різними бактеріальними видами призводять до того, що одночасно з колосальним розмноженням відбувається не менше колосальне відмирання бактеріальних клітин.

Деякі бактерії мають здатність до спороутворення. Спороутворення — спосіб збереження виду, що потрапив у несприятливі для нього умови. У середині клітини утворюється особливе тільце округлої або еліпсоїдної

форми, одягнене щільною оболонкою – спорою, яка оберігає від впливу зовнішнього середовища. Згодом у інших умовах із кульки-спори «вилупиться» бактерія, яка через 40–60 хвилин переходить до нормального обміну речовин.

Спори – найстійкіші істоти на землі. Кип'ятіння, морози, висушування, сонячне проміння, навіть хімічні отрути майже не діють на них. Одним з ефективних методів впливу є стерилізація – термічна обробка в автоклаві за температури 120 °С, подвоєному тиску протягом 20–30 хвилин (393 °К, 202650 Па).

Систематика бактерій проводиться на підставі певних ознак у групи мікроорганізмів. Для виділення бактерій у певну систематичну групу потрібне ретельне вивчення морфології, здатності до переміщення, спороутворення. Відмітними ознаками служать відношення клітин до **фарбування за Грамом**. Сутність цього методу полягає в з'ясуванні можливості утримування клітиною барвника (кристалічний фіолетовий – йод) за подальшої обробки препарату спиртом. Використання цього індикаторного методу дозволяє виділити дві групи мікроорганізмів: **грампозитивні**, що зберігають забарвлення, і **грамнегативні**, що знебарвлюються під час обробки препарату спиртом.

Для віднесення мікроорганізмів до певної систематичної групи необхідно знати також особливості обміну речовин, з'ясувати характерні ознаки зміни зовнішнього середовища під впливом життєдіяльності мікроорганізму, наприклад, утворення газів; визначити спосіб отримання енергії, ставлення мікроорганізмів до впливу факторів зовнішнього середовища.

Для бактерій, як для тварин і рослин, прийнята бінарна номенклатура: кожній бактерії привласнюють родову й видову назву.

У бактеріології поряд із поняттям «вид» широко поширене поняття «штам». **Штамом** називають чисту культуру цього виду мікроорганізмів, об'єднану спільністю походження (наприклад, штам хворого).

Для бактерій тільки морфологічної характеристики недостатньо через простоту їх будови, тому їх класифікація базується і на функціональних ознаках.

Для полегшення роботи з бактеріями існує поняття «типовий вид». Кожен такий добре відомий, ретельно вивчений, легко визначуваний вид є типовим представником роду або групи видів.

Як правило, культури типових видів підтримуються в музеях культур різних дослідницьких установ.

Особливе становище в систематиці взагалі, а в систематиці бактерій особливо займає категорія **роду**. Вид не може отримати назву, якщо він не віднесений до певного роду (за старим правилом родова назва – морфологічні ознаки, видова – фізіологічні).

Ідентифікація за родом вимагає великої кількості фізіологічних і біохімічних експериментів, в тому числі тести на різні ферменти, відновлення нітратів, освіту сірководню, кислот, газів та інші ознаки.

Останнім часом набуває значущість аналіз нуклеотидного складу бактерій.

Нитчасті форми мікроорганізмів. Нитчасті бактерії за розмірами і будовою істотно відрізняються від основного типу одноклітинних мікроорганізмів. Вони є організмами багатоклітинними, але в іншому, крім розмірів, мають властивості мікробів. Нитчасті бактерії представляють собою тонкі довгі нитки з поперечним діаметром 1–25 мкм, що складаються із зчеплених коротких клітин. Довжина нитчастих бактерій іноді перевищує 100 мкм. Нитчасті форми зустрічаються в групах сіро, залізо, манганобактерій. Вони можуть бути вільноплаваючими або прикріпленими до якого-небудь твердого тіла.

Сіркобактерії заселяють забруднені водойми, виростають густими дерновниками на поверхні мулу і поселяються на бетонних стінах споруд. Серобактерії *Beggiatoa*, потрапляючи в труби, майже повністю їх забивають. Сірчана кислота, що виділяється в процесі життєдіяльності сіркобактерій, руйнує бетон і металеві конструкції. Під час дії на бетон або залізобетон сірчаної кислоти, утвореної серобактеріями, виділяється гіпс.

Нитчасті метано- і залізобактерії, розростаючись у водопровідних трубах, закупорюють їх відкладеннями гідроокисів заліза й марганцю.

Масовий розвиток одного з видів бактерій в активному мулі викликає розлад у роботі біологічних споруд: активний мул спухає та погано осідає під час відстоювання.

Контрольні питання

1. Патогенні і апатогенні мікроорганізми.
2. Мікроорганізми води.
3. Віруси, їх будова і розмноження.
4. Роль фагів у процесі самоочищення водойм.
5. Класифікація бактерій за морфологічними ознаками.
6. Склад і будова бактеріальної клітини.
7. Розмноження бактерій, спороутворення.
8. Систематика бактерій.
9. Нитчасті форми мікроорганізмів.

Лекція 4 Будова, розмноження і систематика грибів, найпростіших, водоростей

1. Гриби – будова, систематика.
2. Водорості – будова, їх види.
3. Найпростіші (Protozoa) – видове різноманіття, їх будова, класифікація.

У процесах очищення води від забруднень поряд із бактеріями (прокаріоти) беруть участь еукаріотні (мають ядро) організми – гриби, (рис.4.1), водорості і найпростіші. Зазвичай ця участь непряма і виражається в споживанні продуктів життєдіяльності бактерій або в поїданні самих

бактеріальних клітин. Проте, гриби й водорості розвиваються в біофільтрах, водорості – в окиснювальних ставках, а найпростіші – у всіх типах очисних споруд.

1. Гриби (*mycota*)– будова, систематика.

За будовою і біологією розмноження гриби поділяються на слизові — міксоміцети і справжні гриби (*Eumycota*). Міксоміцети зазвичай на очисних спорудах не зустрічаються і відсутні дані про руйнування ними органічних сполук.

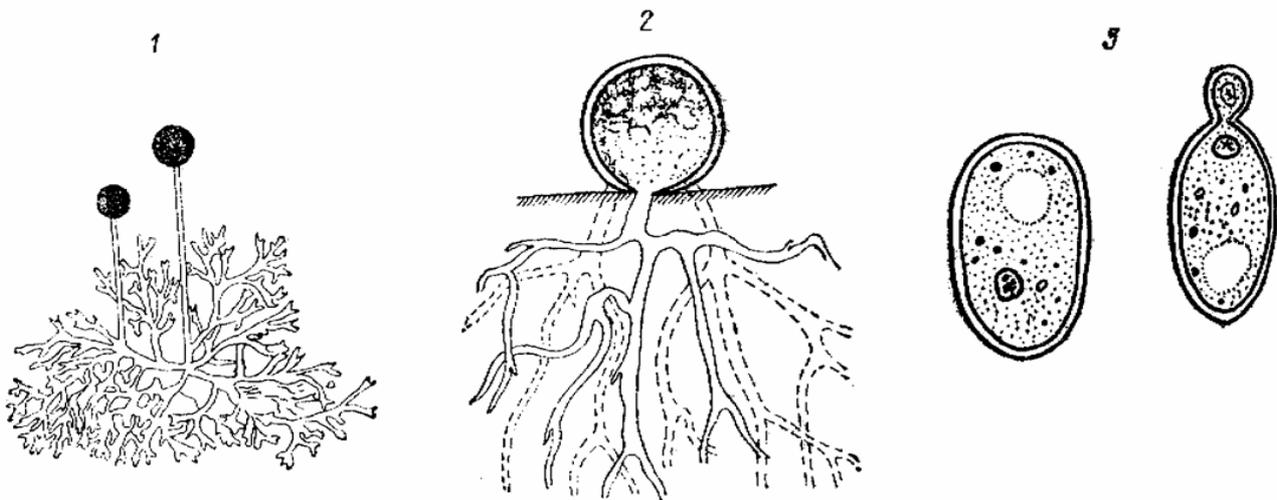


Рисунок 4.1 – Гриби

1 – *Mucor mucedo*; 2 – водні фікоміцети; 3 – дріжджі

У справжніх грибів вегетативне тіло є скупченням безлічі ниток, часто сильно розгалужених і переплетених, що називаються міцелієм.

Міцелій буває безбарвним або пігментованим у різні кольори, частіше зелених або синьо-зелених тонів, що добре видно під час зростання грибів на поверхні щільних поживних середовищ, де вони утворюють колонії.

У грибів немає фотосинтетических пігментів. За типом харчування вони **гетеротрофи** (джерелом вуглецю є органічні сполуки). Поглинання поживних речовин можливе лише з розчинів (осмотрофія).

Міцеліальні гриби для зростання й розвитку вимагають аеробних умов; енергію вони добувають у окислювальних реакціях, використовуючи для цього органічні сполуки. Всі без винятку гриби належать до рослинного світу. Наука про гриби – **мікологія** – являє собою частину ботаніки.

Число відомих грибів дуже велике. У 25-томній праці Соккардо, виданій у 1882–1928 рр., зібрано опис 74 323 їх видів.

Деякі із **сапрофітних** грибів (мікроміцети), культивовані із застосуванням мікробіологічних методів, виділяються з очисних споруд, особливо з біофільтрів. Нерідко ці гриби відомі як цвілеві гриби, що псують продукти і деякі промислові товари (тканини, шкіру), або як продуценти органічних кислот. Всі вони здатні споживати сполуки рослинного та тваринного походження.

Будова міцелію. Гіфи грибів можуть бути одно- (більшість нижчих грибів) або багатоклітинними, розділеними на клітини поперечними перегородками, що мають у центрі пору, через яку сполучається цитоплазма сусідніх клітин. Багатоклітинний міцелій мають всі вищі гриби. *Гіфа* є трубчастою ниткою, діаметр якої залежить від виду гриба й умов культивування та коливається від 3 до 10–12 мкм.

Клітини грибів (гіфи) покриті оболонкою, за складом відрізняється від бактеріальних і рослинних оболонок, яка складається з полісахаридів і хітину.

Належність до певного класу зумовлює хімічний склад клітинних оболонок.

Хітин – речовина, властива тваринному світу. Хітин – целюлоза, в молекулі якої гідроксильні групи при 2-у вуглецевому атомі залишків глюкози заміщені ацетильованими аміногрупами. Із хітину складаються жорсткі покриви комах. Проте в оболонках деяких грибів уміст хітину досягає 60 %.

Молоді оболонки гіф безбарвні, з віком у деяких видів пігментуються в різні кольори: зелений, синій, жовтий, помаранчевий, червоний, коричневий.

Оболонки бувають дво- та багат шарові. Під оболонкою розташовані *цитоплазматичні мембрани*. Мембрана складається з білків (близько 38 %) і ліпідів (близько 40 %). Це забезпечує її проникність для водо- і жиророзчинних речовин.

Вміст клітини представлено цитоплазмою, що має одне або кілька ядер, вакуолі, мітохондрії, рибосоми та включення, що складаються із запасних поживних речовин.

Ядро у грибів типове для еукаріотів рослинних організмів. Розміри ядра 2–3 мкм, форма округла. Наявність оболонки в ядер грибів і водоростей – відмітна ознака структури їх клітин. Нуклеотиди без'ядерних мікроорганізмів позбавлені оболонок.

Ядра розмножуються або прямим розподілом – амітозом, або непрямим – мітозом. Хромосоми грибів складаються з ланцюжків ДНК і РНК.

Гриби розмножуються вегетативним, тобто безстатевим шляхом, але у них є і статеве розмноження. Безстатеве розмноження можливе спорами, брунькуванням клітин, фрагментацією гіф із утворенням ондій або артроспор, а також у результаті механічного розриву міцелію. Грибам властива *висока регенеративна здатність*: будь-який клаптик міцелію в сприятливих умовах дає зростання, перетворюючись на організм наступного покоління.

Статеве розмноження грибів відбувається в результаті злиття двох клітин – гамет, що супроводжується злиттям ядер.

Систематика грибів. У мікології все гриби поділяють за низкою морфолого-біологічних ознак на нижчі й вищі.

До *нижчих* грибів належать два класи:

1. архіміцети, що не мають міцелію і живуть у водному середовищі;
2. фікоміцети, частина з яких ще веде водний спосіб життя, а інша в процесі філогенезу вже перейшла до сухопутного існування.

До *вищих* грибів належать класи сумчастих грибів і базидіальних. Їх вегетативне тіло представляє собою добре розвинений нитчастий

багатоклітинний міцелій, вони мають морфологічно чітко диференційовані органи розмноження.

В очисних спорудах, особливо на біофільтрах, зустрічаються представники класів *Phycomycetes* (гриби – водорості), аскоміцети (*Ascomycetes*) (сумчасті) і недосконалі гриби.

Фікомицети були виділені з проб біоплівки біологічних фільтрів, проб відстійників і біля виходу води з Безлюдівських очисних споруд м. Харкова.

До окремої групи грибів – **мікрومیцетів**, що зустрічаються в біоплівках очисних споруд, належать види *Aspergillus* і *Penicillius* сімейства аспергілієвих. Ці пологи широко поширені в природі, особливо в ґрунтах, вони відомі як цвілі, що пошкоджують харчові продукти.

Гриби під час зростання на поверхні щільних поживних середовищ утворюють колонії, легко зливаються між собою в так звані дерновинки, що покривають субстрат суцільною, частіше зеленувато-блакитною, сірою або білою бархатистою плівкою. Колір колоній або дерновінок є постійним для кожного виду і є діагностичною ознакою під час визначення виду.

До **аскомицетів** належать також дріжджі, або дріжджові гриби. Це одноклітинні організми. За вирощування в рідкому середовищі дріжджі можуть утворювати плівку на поверхні або рости в глибині середовища, викликаючи бродіння вуглеводів. Дріжджі і дріжджоподібні гриби широко поширені в природі і зустрічаються в ґрунті, на поверхні рослин і комах.

2 Водорості – будова, види

В очисних спорудах типу біофільтрів і в ставках можуть у великій кількості розвиватися **водорості** (рис. 4.2).

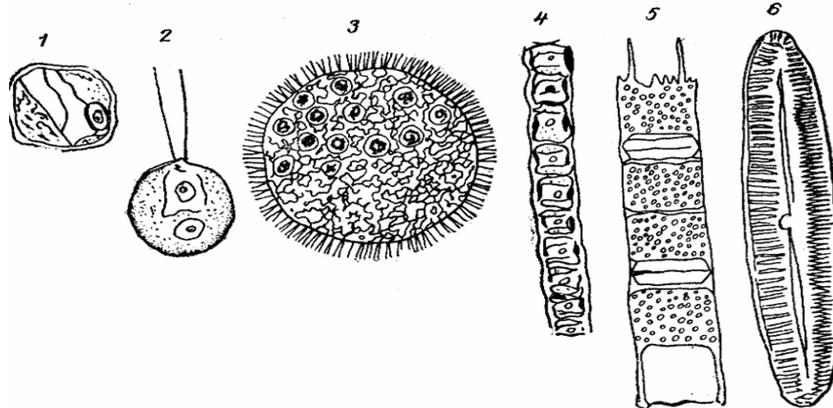


Рисунок 4.2 – Зелені водорості:

1 – *Chlorella vulgaris*; 2 – *Chlamidomonas simplex*; 3 – *Volvox aureus*;
4 – *Ulothrix zonata*.

Діатомові водорості: 5 – *Melosira granulata*; 6 – *Pinnularia viridius*.

Найбільш поширені **зелені водорості** підкласу *Protococcine*. Наявність хлорофілу в клітинах водоростей обумовлює їх здатність до фотосинтезу. Різне забарвлення пояснюється тим, що крім хлорофілу в клітинах можуть бути й інші пігменти.

За хімічним складом зелені водорості близькі до вищих рослин. Середній вміст вуглеводів 30–35 %, азотовмісних – 4–45 %, ліпідів – 10 %, золи та інших

речовин – 10–20 %. Зміст різних речовин коливається залежно від виду водоростей, умов зростання й інших чинників. Деякі групи можуть використовувати в якості джерела живлення органічні речовини (міксотрофні водорості).

Зелені водорості (рис. 4.3) широко поширені в поверхневих водоймах. Серед них зустрічаються одно-, багатоклітинні і колоніальні форми. Розмножуються вони поділом цитоплазми з утворенням дочірніх клітин або статевим шляхом. Деякі види розмножуються шляхом утворення рухливих спор. Колонії утворюються в результаті безстатевого ділення, за якого дочірні клітини залишаються пов'язаними одна з одною. Ядро клітини зелених водоростей диференційовано і відокремлене від цитоплазми мембраною. Оболонка клітин складається з целюлози. У цитоплазмі можуть міститися зерна крохмалю, які є продуктом фотосинтезу. Роль зелених водоростей в очищенні води полягає у фотосинтетичній аерації окиснювальних ставків.

У прісних водоймах з одноклітинних форм найчастіше зустрічаються хлорелла (*Chlorella vulgaris*), хламідомонади (*Chlamidomonas*), з колоніальних вольвокс (*Volvox aureus*), гоніум (*Gonium pectorale*), з багатоклітинних – улотріксівіе.



Рисунок 4.3 – Зелені водорості

Синьо-зелені водорості (рис. 4.4) належать до низькоорганізованих форм. Вони найбільш пристосовані до життя у водоймах, забруднених органічними речовинами. Багато з них можуть фіксувати молекулярний азот для біосинтезу білка. Серед синьо-зелених водоростей зустрічаються одноклітинні (*Aphanizomenon flos aqna*) і (*Anabaena*) (рис. 4.5). У їх клітинах на відміну від інших типів водоростей немає вакуолей із клітинним соком і відокремлених ядер. Хлорофіл та інші пігменти (синій – фікоціан, червоний – фікоеритрин, помаранчевий – каротин) розподілені у вигляді зерен в зовнішньому шарі цитоплазми [13-15].

Синьо-зелені водорості знаходяться в підвішеному стані завдяки наявності газових бульбашок усередині клітини. Для багатьох видів синьо-зелених водоростей характерне утворення слизових оболонок, що сприяють формуванню колоній.

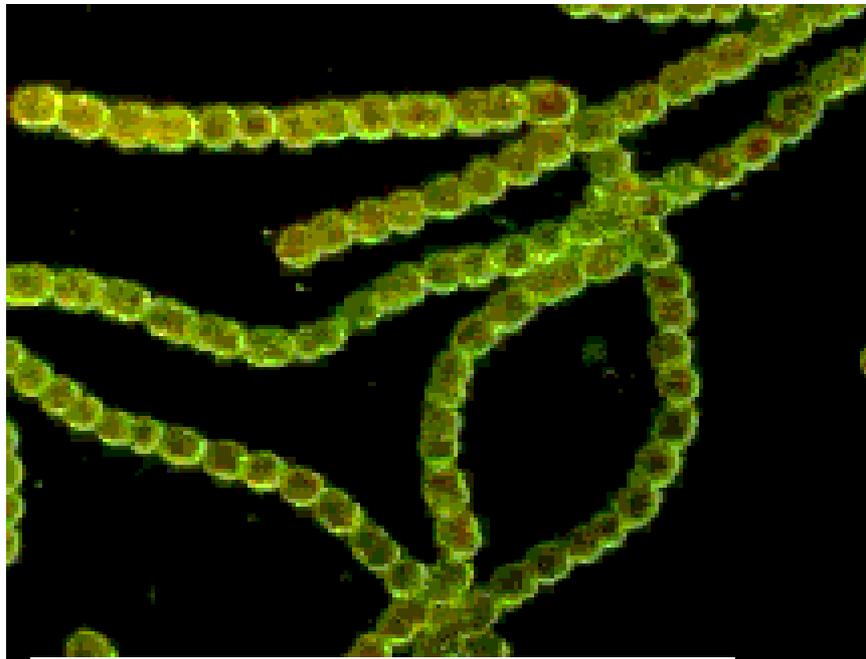


Рисунок 4.4 – Синьо-зелені водорості

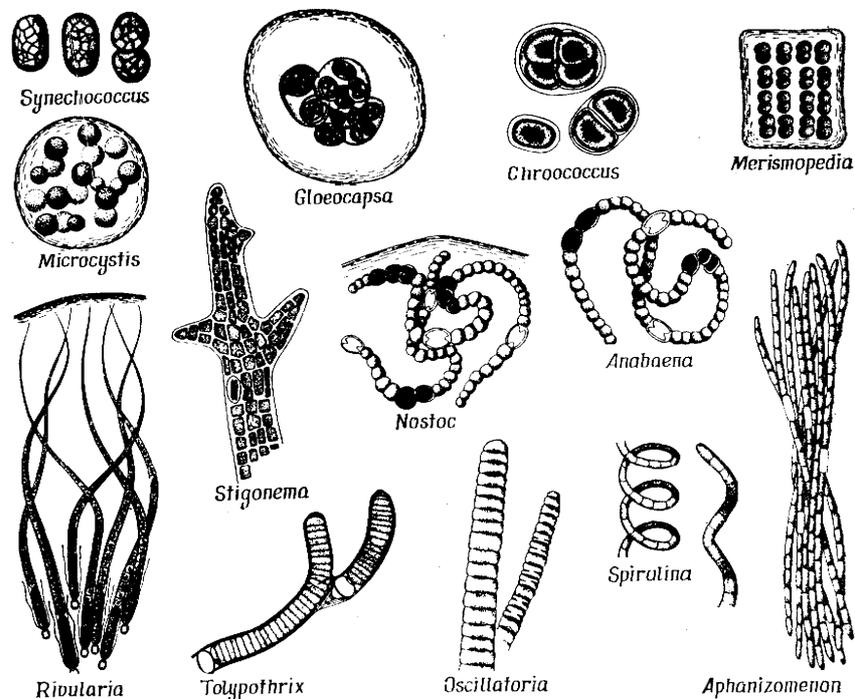


Рисунок 4.5 – Деякі види синьо-зелених водоростей

Діатомові водорості – одноклітинні мікроорганізми, які мають тверді силікатні панцир (рис. 4.6).

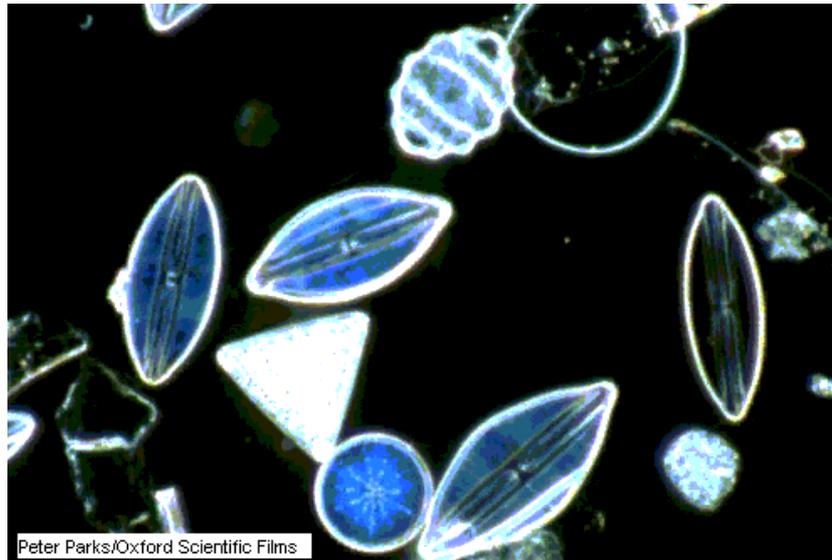


Рисунок 4.6 – Діатомові водорості

Пігменти, що входять до складу їх клітин, мають буре або жовте забарвлення. Розмножуються вони простим поділом або за допомогою спор. Будова кремнієвого панцира, що складається з двох стулок, є характерною ознакою виду.

Із діатомових водоростей у прісних водоймах найчастіше зустрічаються астеріонелла (*Asterionella*), сінедра (*Sinedra*), мелозіра (*Melosira*).

Червоні Coralline водорості належать до типу Rhodophyta. Червоні водорості (рис. 4.7) можуть включати вуглекислий кальцій у стінках їх осередків, надаючи їх тілу жорсткість. Більшість червоних водоростей мають здатність до фотосинтезу, зустрічаються на значно більших глибинах, ніж інші типи водоростей. Деякі види червоних водоростей із Багамських островів ростуть на глибинах майже 880 футів (~ 260 м).



Рисунок 4.7 – Червоні водорості

Із червоних водоростей виділяють речовину – агар, який використовується в біохімічній промисловості.

3. Найпростіші (Protozoa) – видове різноманіття, будова, класифікація

До цього типу належать одноклітинні тварини організми. Більшість із них мають відносно постійну форму клітини завдяки наявності щільної еластичної оболонки – пеллікули. Багато найпростіших здатні пересуватися.

Розподіл типу на класи засновано на особливостях будови органоїдів руху. Розмноження найпростіших відбувається в результаті простого або множинного поділу, а також статевим шляхом.

Постійними мешканцями водойм є такі класи найпростіших:

- 1) саркодові (*Sarcodina*);
- 2) джгутикові (*Mastigophora* або *Flagellata*);
- 3) інфузорії (*Infusoria* або *Ciliata*).

Клас **саркодових** включає в себе найпростіших, що утворюють вирости для пересування й захоплення їжі. До них належать амеби (голі й черепашки), соняшник, форамініфери та радіолярії (рис. 4.8, 4.9).

Цитоплазма у них утворює два шари: зовнішній (екзоплазма) і внутрішній, більш темний (ендоплазма).

Амеби мають відокремлене ядро. У деяких видів соняшників є велика кількість ядер (до 200). Захоплена псевдоподіями їжа з невеликою кількістю води утворює в клітині травні вакуолі, де і відбувається її переварювання. Залишки їжі виводяться з клітини.

Амеби харчуються бактеріями, соняшники – іншими найпростішими (джгутиковими, інфузоріями), тобто є хижаками.

У клітинах найпростіших є скоротливі вакуолі, для осморегуляції й виведення деяких розчинних у воді продуктів обміну речовин. У черепашкових амеб для захисту від несприятливого зовнішнього впливу є мушлі, що складаються з органічних речовин та кремнезему.

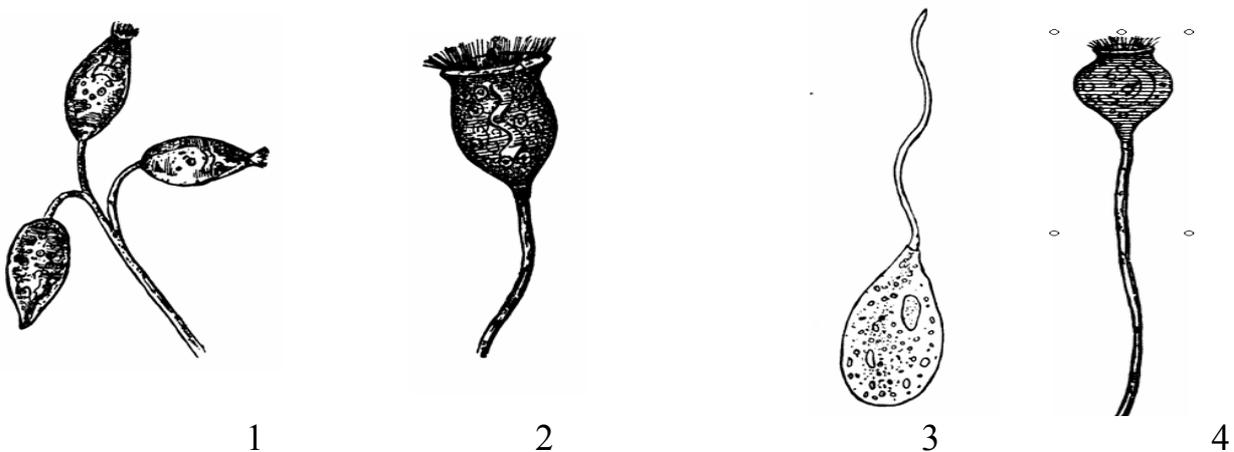


Рисунок 4.8 – Найпростіші:

1 – *Opercularia coarctata*; 2 – *Vorticella convallaria*; 3 – *Flagellata*; 4 – *Vorticella microstoma*

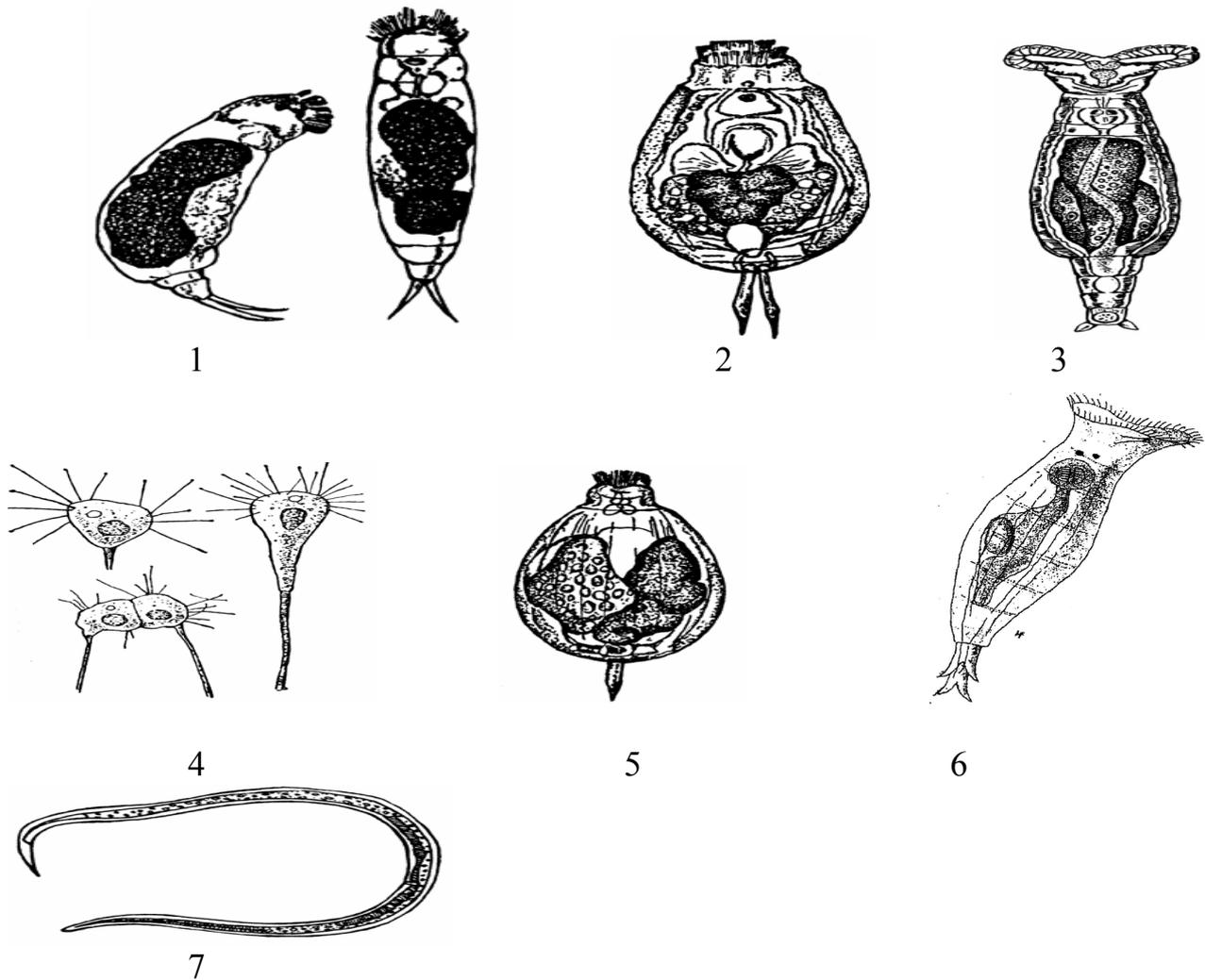


Рисунок. 4.9 – Найпростіші

- 1 – *Notommata ansata* (вид ззаду і збоку); 2 – *Cathypha luna*; 3 – *Callidina vorax*;
 4 – *Tokophria lemnae*; 5 – *Monostyla cornuta*; 6 – *Philodina roscola*;
 7 – Круглий черв'як *Nematoda*

Соняшники є постійними мешканцями прісних і морських вод. Більшість із них вільноплаваючі, але деякі прикріплюються до субстрату. Вони мають сферичну форму і радіально розташовані псевдоподії з міцною осьовою ниткою всередині. У деяких видів є кулястий силікатний скелетик.

Джгутикові відрізняються сталістю форми й наявністю тонких протоплазматических виростів – джгутиків, які є органами руху. Серед представників цього класу зустрічаються організми з різним рівнем організації та типом харчування. Тіло має овальну, еліптичну або округлу форму. Розміри 10–20 мкм. Джгутики, розташовані на кінцях, забезпечують швидкий рух. Розмножуються розподілом, харчуються бактеріями. Сприятливими умовами розмноження є високий вміст органічних речовин і бактерій.

Поява великої кількості дрібних джгутикових завжди свідчить про погіршення роботи очисних споруд. Воно пов'язане або з нестачею кисню, або з перевантаженням. Із безбарвних джгутикових частіше зустрічаються

Oicomonas, що мають один плавальний джгутик, і *Vodo*, що мають 2 джгутики, один із яких плавальний, інший – керманіч, спрямований назад.

Найбільш складну будову з найпростіших мають **інфузорії**. Тіло їх вкрите тонкими волосками, або віями. Це досить великі організми. Розмір інфузорії *Paramecium candidum* (туфелька) становить 0,15–0,2 мм.

Залежно від розташування війок інфузорії бувають:

1) рівновійкові, у яких вся поверхня рівномірно покрита віями. Із рівновійкових найбільш часто зустрічаються *Paramecium*, *Ciclidium glaucoma*;

2) брюховійкові – на черевній поверхні вій більше, ніж на інших частинах. Мають плоске тіло, до них належать види: *Stylonichia.*, *Aspidisca*, *Euplotes*, *Oxytricha*.

Аспідиска і еуплетус – овальні клітини, дуже рухливі, швидко пересуваються по поверхню активного мулу або плавають у воді;

3) різновійкові мають вії різної довжини, зазвичай довші у ротового отвору;

4) кругловікові круглореснічніє (*Peritricha*) – кругове розташування війок навколо тіла. Кругловікові інфузорії зазвичай ведуть прикріпленій спосіб життя. Вони мають характерну форму: стеблинка, закріплена на твердій поверхні, що закінчується овальною кліткою, яка нагадує дзвіночок. Вії у них розташовані на передньому краї тіла, оточуючи навколоротовий диск. Особливістю їх є здатність до скорочення тіла або стеблинки. Серед них зустрічаються одноклітинні (воронка на довгій ніжці) (*Vorticella*) і колоніальні форми (*Opercularia*, *Carchesium*, *Epistilis*) (рис. 4.8). У певних умовах у кругловікових інфузорій спостерігається утворення стадії, що вільно плаває («бродяги»), яка сприяє їх розселенню.

Інфузорії харчуються бактеріями, зваженими органічними домішками. У інфузорій зазвичай є два ядра: велике і мале. У деяких кілька ядер.

Їжа потрапляє спочатку в навколоротове поглиблення і через ротовий отвір у глотку. Потім перекладається в ендоплазму, утворюючи травну вакуоль, тобто у інфузорій внутрішньоклітинне травлення. Залишки їжі виводяться через певні ділянки клітини. Війкова інфузорія *Epistilis* грає важливу роль в утворенні пластівців активного мулу.

Особливу групу складають **смоктальні інфузорії** (*Suctoria*), які ведуть паразитичний спосіб життя. Замість війок у них особливі, порожнисті усередині щупальця, за допомогою яких вони висмоктують уміст клітин. Живляться вони іншими найпростішими.

Відокремлену групу тваринних організмів становлять **коловертки** (*Rotatoria*). Вони споріднені деяким групам нізкоорганізованих черв'яків. Коловертки – багатоклітинні організми, що мають членисту будову панцира. Розмір їх досягає 2 мм. Знизу панцир закінчується вузьким отвором, з якого виходить нога коловертки, що закінчується двома пальцями. У коловерток вже є примітивна травна система, що складається з ротової порожнини, глотки, стравоходу, шлунка і тонкої кишки. Продукти обміну видаляються за допомогою органів виділення. Вії служать для спрямованого струму води. Кровоносна й дихальна системи у коловерток відсутні. Харчуються вони бактеріями, найпростішими, органічними речовинами. У більшості коловерток

є очі у вигляді червоних плям. Коловертки – аероби, чутливі до нестачі кисню. Гранично високою температурою для них є 50 °С. За несприятливих умов утворюють цисти (при цьому голова і нога втягуються в панцир).

Коловертки використовуються в якості індикаторних організмів під час оцінювання роботи очисних споруд біологічного очищення.

Хробаки (*Vermes*). Характеризуючи процес мінералізації органічних речовин в природних і штучних умовах, дослідники відводять значну роль круглим (*Nematodes*) і малощетинковим (*Oligochaeta*) хробакам.

Круглі хробаки мають круглі, ниткоподібні, позбавлені будь-якої пігментації тіла, зазвичай звужені на обох кінцях. Це досить просто організовані тварини, у яких кровоносна й дихальна системи відсутні.

Травна система трубчастої форми складається з м'язистого стравоходу й кишки, що проходить через усе тіло. Їжа в нематод надходить у організм через ротовий отвір, який розташований в центрі головного кінця тіла. Функцію виділення виконує видільна кишка, яка за допомогою вузького каналу, розташованого найчастіше в області стравоходу або в кінці організму. Зовнішні покриви тіла нематод складаються з двох щільно з'єднаних шарів. Верхній являє собою прозору, безбарвну, дуже міцну, малопроникну для сторонніх речовин оболонку. Унаслідок цього деякі види нематод можуть довго перебувати в несприятливих для них середовищах. Нематоди роздільностатеві. Розмножуються зазвичай відкладанням яєць. Кількість яєць у вільно живучих форм обчислюється десятками, тоді як у паразитів їх число досягає мільйонів. Цикл розвитку – від 5–6 діб до місяця.

Нематоди мають нервову систему, представлену нервовим кільцем, розташованим навколо стравоходу. Вічка служать для сприйняття світлових відчуттів і є тільки у деяких вільно живучих нематод, а у паразитів відсутні.

Нематоди широко поширені в природі, вони зустрічаються в солоній воді, прісних водоймах, ґрунті, на рослинах, а також паразитують у людському і тваринному організмі.

Водні нематоди є переважно донними організмами. Багато видів зустрічаються у фауні обростань (палі, пристані тощо).

Нематоди – характерні представники активної плівки на біологічних окиснювачах, штучно створених для очищення стічних вод.

Малощетинкові кільчасті хробаки (*Oligochaeta*) складаються з сегментів. Тіло олігохет забезпечено щетинками. У деяких олігохет на задньому кінці тіла є зяброві придатки. Якщо їх немає, то організм дихає через шкіру. Весь організм побудований за типом членистих, органи повторюються в кожному членіку.

У олігохет як статеве, так і безстатеве розмноження шляхом поділу. Після розчленування відбувається регенерація відсутньої частини.

На біологічних окиснювачах із малощетинкових хробаків найбільш часто зустрічаються *Aeolosoma* і *Nais*. У *Aeolosoma* пучки щетинок розставлені, шкірні включення від червоного до молочно-білого відтінків. Розмноження безстатеве.

У *Nais* на зовнішньому кінці щетинки розчленовані. Джерелом живлення хробаків є мулові частинки, які пропускаються через організм, мінералізуються. Залишки викидаються назовні в більш укрупненому вигляді, що сприяє освітленню рідини, яка очищається. Наявність великої кількості хробаків свідчить про замулювання біофільтра.

У прісній воді зустрічаються також **нижчі ракоподібні**. Представниками нижчих ракоподібних є **гіллястовусі і веслоногі рачки**. До веслоногих рачків належать циклопи (*Cyclops*), до гіллястовусих – дафнії (*Daphnia*). Циклопи переміщуються за допомогою ніг, розташованих на грудях тварини, а дафнії – за допомогою антен, оздоблених плавальними щетинками.

Нижчі ракоподібні є активними фільтраторами. Вони процеджують через свій організм велику кількість води, затримуючи зважені речовини, частково їх мінералізують, а залишки викидають назовні в компактному (склеєному) стані. Їжею для них є бактерії, дрібні водорості, органічна суспензія. Самі рачки є їжею для риб.

Нижчі ракоподібні можуть бути носіями личинок паразитичних хробаків, наприклад, гіллястовусі рачки під час фільтрування води заковтують личинки стрічкового хробака, що паразитує в організмі людей і тварин. Личинка, потрапивши в рибу, інтенсивно розвивається. У разі вживання недостатньо провареної риби людина заражається личинками, які з часом перетворюються на дорослого хробака, що досягає 17 м довжини. Причому людина може бути заражена декількома хробаками, оскільки в одній рибі одночасно зустрічаються до 2000 личинок.

Контрольні питання

1. Будова, розмноження і склад грибів.
2. Систематика грибів.
3. Зелені водорості.
4. Синьо-зелені і діатомові водорості.
5. Охарактеризуйте простіших (саркодові і джгутикові).
6. Інфузорії. Класифікація, харчування.
7. Коловертки.
8. Характеристика черв'яків.
9. Нижчі ракоподібні.

Лекція 5 Фізіологія мікроорганізмів

1. Види обміну речовин – конструктивний і енергетичний.
2. Роль ферментів, їх класифікація.
3. Хімічний склад клітин мікроорганізмів.
4. Механізм харчування мікроорганізмів.

1. Види обміну речовин –конструктивний і енергетичний

Фізіологія вивчає процеси, що протікають у живому організмі, і їх закономірності. Взаємодія організму з середовищем проявляється в обміні речовин і енергії (**метаболізм**). Він включає в себе два процеси:

– **конструктивний обмін** (асиміляція, або анаболізм – від грец. Anabole – підйом) – сукупність біохімічних реакцій, в процесі яких засвоюються речовини, що надходять із навколишнього середовища, і йде створення біомаси клітини;

– **енергетичний обмін** (дисиміляція, або катаболізм) – сутність енергетичного обміну полягає в руйнуванні речовин, що містяться в організмі, переважно в результаті гідролітичних і окиснювальних процесів, що супроводжуються виділенням енергії, необхідної для біосинтезу.

Обидва процеси відбуваються в клітці одночасно і поєднуються один із одним. Енергія, отримана кліткою в процесі обміну речовин, акумулюється в сполуках, що містять хімічні зв'язки, під час розриву яких виділяється велика кількість енергії (макроенергетичної).

Часто це з'єднання з фосфатними зв'язками, наприклад, аденозинтрифосфат (АТФ). За необхідності ці речовини піддаються гідролітичному розпаду, що супроводжується виділенням енергії.

Продукти життєдіяльності мікроорганізмів (метаболіти) можуть виводитися з клітини або відкладатися в ній, утворюючи різного роду включення. Мікроорганізми протягом доби можуть переробити кількість поживних речовин, яка в 20–40 разів перевищує їх масу.

2 Роль ферментів, їх класифікація

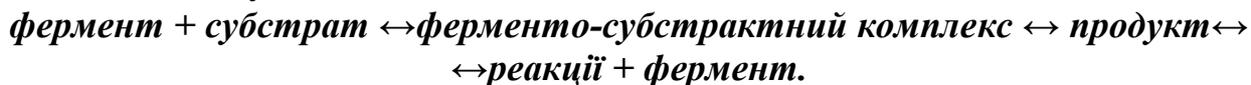
Біохімічні реакції обміну речовин і енергії протікають у присутності біологічних каталізаторів – **ферментів**. Ферменти каталізують перетворення речовин, що надходять з навколишнього середовища і виникають всередині організму.

Біологічні каталізатори, які виділяються в зовнішнє середовище і переводять складні сполуки у форму, здатну засвоюватися організмом, називаються **екзоферменти**.

Біохімічні процеси, які відбуваються всередині клітини, здійснюються за участю **ендоферментів**.

За **хімічною будовою** ферменти можуть бути простими (протеїни) або складними (протеїди) білками. Активність ферментів-протеїнів обумовлена наявністю активних центрів у білкової молекули. Молекула протеїдів включає активні групи, що містять складні органічні сполуки або метали (залізо, кобальт та ін.). Білкова частина молекули ферменту називається феронрм (носій), а додаткова – агонем (активна група). Якщо агон може існувати окремо, то він називається **коферментом**. Коферменти зазвичай є проміжними переносниками електронів або деяких атомів і атомних груп (водню, аміногруп та ін.) від одних сполук до інших. До складу коферментів часто входять вітаміни.

Механізм дії ферментів заснований на зниженні енергії активації взаємодіючих молекул. Процеси, що протікають за ферментативного каталізу, можна записати у вигляді схеми



Для ферментів характерне значне зниження енергії активації порівняно зі звичайними каталізаторами. Наприклад, для розкладання перекису водню на кисень і воду потрібно енергію активації 75,2 кДж/моль. У присутності каталізатора (Pt) вона знижується до 50,2 кДж/моль, а фермент каталаза зменшує її до 8,3 кДж/моль.

Дія ферментів суворо специфічна їх активність залежить від рН, температури, присутності низки хімічних сполук. Деякі іони підвищують активність ферментів (Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+}), так само діє і аскорбінова кислота. Залежно від типу хімічних реакцій, що проходять за каталітичного впливу ферментів, розрізняють **шість класів ферментів** (відповідно до сучасної класифікації й номенклатури):

1) **гідролази**, що прискорюють процеси розкладання або синтезу, що проходять за участю води. Наприклад, ліпаза прискорює гідроліз жирів з утворенням гліцерину і вищих жирних кислот;

2) **оксиредуктази** каталізують окиснювально-відновні реакції;

3) **трансферази** прискорюють реакції передачі атомних груп від одних сполук до інших;

4) **ліази** каталізують реакції розпаду з утворенням простих з'єднань (CO_2 , NH_3 , H_2O);

5) **лігази** визначають можливість синтезу складних сполук з простих, наприклад, процеси синтезу білків;

6) **ізомерази** каталізують перетворення органічних сполук у їх ізомери. Ізомеризації піддаються амінокислоти, органічні кислоти та вуглеводи.

3 Хімічний склад клітин мікроорганізмів

Загальну масу клітини на 75–90 % становить вода, оскільки всі біохімічні процеси проходять у водних розчинах. За допомогою води здійснюється транспорт поживних речовин у клітину і виведення з неї продуктів обміну.

Основними хімічними елементами, що складають основу органічної речовини, є вуглець, азот, водень, кисень, фосфор, сірка. Найбільш важлива частина будь-якого живого організму – **білок**. Білки є пластичними матеріалами, з яких побудовані клітини. Вони можуть використовуватися в якості енергетичного матеріалу, входять до складу ферментів. Клітини мікроорганізмів містять велику кількість білків, що відрізняються за хімічним складом і будовою. Вони визначають специфічність мікроорганізмів і їх мінливість під впливом навколишнього середовища. У молодих клітинах міститься велика кількість білкових з'єднань.

Особливу роль у синтезі білків виконують нуклеїнові кислоти — РНК і ДНК, що зумовлюють передачу спадкових властивостей організму. Зміст білкових з'єднань залежить від умов зовнішнього середовища, за достатньої кількості поживних речовин частина білків може відкладатися в запас.

У клітинах мікроорганізмів завжди містяться вуглеводи, причому для кожного виду складу їх різний. Кількість вуглеводів залежно від умов змінюється від 10 % до 30 %. Вуглеводи є одним з основних джерел енергії.

Жири служать запасною речовиною, їх кількість залежить від наявності поживних речовин у навколишньому середовищі. У деяких бактерій вони виконують захисну функцію, входячи до складу капсули, яка непроникна для розчинів, що містять токсичні для бактерії з'єднання. Жири, як і вуглеводи, є енергетичним матеріалом.

До складу бактеріальних клітин входять макро- і мікроелементи. Неорганічні сполуки становлять 1/300 маси клітини. Основними елементами є S, Fe, Cl, Ca, Na, K, Mg – вони беруть участь в реакціях обміну речовин. Багато з мікроелементів – Li, Mn, J, Co, Cu, Zn та ін. – входять до складу ферментів.

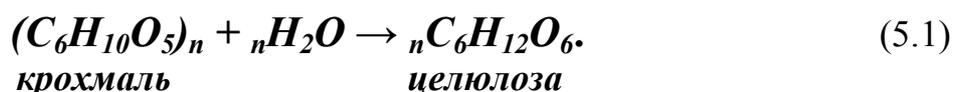
Нормальний розвиток мікроорганізмів спостерігається лише тоді, коли у водному розчині присутні всі елементи, необхідні для побудови і здійснення життєдіяльності клітини.

Крім того, для росту, розмноження та життєдіяльності мікроорганізмів необхідне безперервне надходження енергії. Ці потреби задовольняються в процесі обміну речовин.

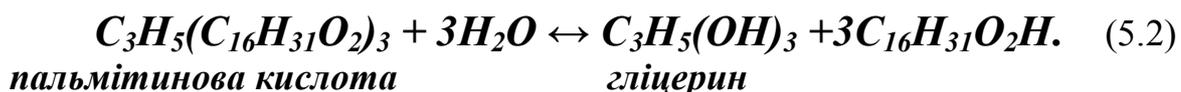
4 Механізм харчування мікроорганізмів

За характером харчування мікроорганізми близькі до рослин. Тверді речовини непридатні для їх харчування. Тому будь-який живильний субстрат, будь-яка органічна речовина тваринного, рослинного або синтетичного походження, перш ніж стати продуктом харчування для мікроорганізму, піддається впливу мікробних ферментів для переходу в стан, придатний для засвоєння.

Великі молекули речовин, нерозчинних у воді (целюлоза, крохмаль, білки), перетворюються під дією ферментів у низькомолекулярні сполуки, добре розчинні у воді. Наприклад, целюлоза і крохмаль перетворюються в глюкозу:



Тристеарин $C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_3$, як і трипальмітин $C_3H_5(C_{16}H_{31}O_2)_3$, що входять до складу жирів, не проникають крізь бактеріальну оболонку, а продукти їх гідролізу вже доступні мікроорганізмам:



Полімерна молекула білка непридатна для харчування бактерій. Ферменти протеази розщеплюють пептидний зв'язок білків. Отримані в результаті цього органічні кислоти і амінокислоти служать поживою для мікроорганізмів:



Взагалі поживна цінність джерел вуглецю залежить від хімічного складу і фізичних властивостей речовин. Карбоксили — COOH мають малу поживну цінність; радикали з відновленим вуглецем — CH₃, — CH₂ — та CH — більш поживні. Але найлегше засвоюються напівокислені атоми вуглецю — CH₂OH, CHOH, CONH₂.

Найбільш доступними джерелами вуглецю для більшості гетеротрофних мікроорганізмів (засвоюють вуглець, органічні сполуки) є цукор, гліцерин, маніт, молочна, винна, лимонна кислоти. Мікроорганізми, які переводять світлову енергію й енергію хімічних зв'язків, називаються фототрофами. Мікроорганізми, які використовують для біосинтезу і підтримання життєдіяльності клітини енергію, що виділяється під час хімічних перетворень, називаються хемотрофами.

Мікроорганізми мають здатність акумулювати енергію в певних макроенергетичних з'єднаннях, що містять хімічні зв'язки, при розриві яких виділяється велика кількість енергії. Одним із таких акумуляторів енергії є аденозинтрифосфат (АТФ), який синтезується з аденозиндифосфату (АДФ) шляхом приєднання залишку фосфорної кислоти. Синтез АТФ здійснюється за рахунок енергії, що виділяється під час протікання низки окиснювально-відновних реакцій. Якщо окиснення органічних речовин йде за участю кисню, то процес утворення АТФ називається окиснювальним фосфатуванням. Процес переходу АДФ у АТФ повернутий, енергія, необхідна для забезпечення біосинтезу, виділяється при відщепленні від молекули АТФ фосфорної кислоти.

Схематична реакція синтезу і розкладання АТФ:



Енергія, що виділяється під час розщеплення АТФ, витрачається також на теплоутворення, забезпечення транспорту поживних речовин через цитоплазматичну мембрану і виконання інших реакцій. Таким чином, обмін речовин невіддільний від обміну енергії: **за конструктивного** обміну вона споживається, а **енергетичний обмін** обумовлює накопичення енергії.

На сьогодні вважають, що пересування речовин із зовнішнього середовища в бактеріальну клітину забезпечується, по крайній мере, чотирма групами механізмів: пасивної і активної дифузії, стереоспецифічної пасивної і активної дифузії. Із них тільки пасивна дифузія (проникнення речовин через клітинну оболонку завдяки мозаїчній будові мікробної оболонки) не вимагає витрат енергії на відміну від трьох інших механізмів. Напівпроникність клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани обумовлює осмотичні властивості клітин мікроорганізмів. Всі мікроорганізми мають

внутрішньоклітинний осмотичний тиск. Внутрішній осмотичний тиск бактерій 3–6 атм, це вдвічі нижче, ніж у клітинах тварин.

Осмотичні явища грають важливу роль у харчуванні мікробів. Якщо клітку помістити в гіпотонічний розчин, спостерігається її набрякання і навіть розрив у наслідок явища, званого *плазмолізом*. У мікробіології в якості фізрозчину використовується 0,5 %-й розчин NaCl, а 0,85 %-й фізрозчин непридатний для бактерій.

Велике значення для мікроорганізмів має рН середовища. Зі зміною рН різко змінюється проникність клітинної оболонки, прискорюється або гальмується діяльність мікробних ферментів.

У бактеріальних клітин є електричний заряд, який завжди негативний. Якщо в посудину з бактеріями, що знаходяться в підвішеному стані в нейтральному водному середовищі, занурити два електрода і пропустити струм, то бактерії пересуваються до анода. Це явище називається *електрофорезом* і свідчить про наявність у бактерій негативного електрокінетичного потенціалу. Негативний заряд бактерій обумовлений великою кількістю кислих фосфоліпідів. У різних бактерій потенціал різний, він залежить від електрохімічних властивостей речовин, що складають поверхневий шар бактеріальної клітини.

Величина електрокінетичного потенціалу залежить від характеру середовища, що оточує клітину (рН). Якщо в середовище додати катіони або підкислити, негативний заряд поверхні бактерії поступово зменшується. Значення рН, за якого відсутній будь-який рух бактерій при проходженні струму і електрокінетичний потенціал дорівнює нулю, називається *ізоелектричною точкою*. Для більшості бактерій ізоелектрична точка знаходиться в зоні рН 3,0-4,0.

Реакція середовища впливає на величину і знак заряду. За рН нижче ізоелектричної точки клітини заряд поверхні клітини позитивний, а якщо рН вище ізоелектричної точки, то заряд негативний. Установлено, що електричний заряд поверхні клітини обумовлює адсорбцію з середовища іонів із протилежним зарядом.

За певного рН субстрату між кліткою мікроба і середовищем починається обмінна адсорбція, яка призводить до потрапляння поживних речовин у клітину.

Контрольні питання

1. Роль обміну речовин мікроорганізмів – конструктивного й енергетичного.
2. Для чого потрібні ферменти?
3. Механізм харчування мікроорганізмів.
4. Хімічний склад клітин мікроорганізмів.
5. У чому відмінність фототрофів від хемотрофів?
6. Процес перетворення органічних речовин під дією ферментів.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1.2 МІКРООРГАНІЗМИ У ПРОЦЕСАХ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД

Лекція 6 Процеси самоочищення водойм. Сапробність

1. Біоценози відкритих водоймищ
2. Зони сапробності
3. Самоочищення водойм
4. Санітарно-бактеріологічна оцінка води

1 Біоценози відкритих водойм

Вода різних водойм містить достатню кількість поживних речовин для розвитку мікроорганізмів. У зв'язку з цим води річок за течією вище міст завжди бідніші бактеріями, ніж у самому місті та нижче.

У водоймах зі стоячою водою (ставки, озера) в прибережній зоні, безпосередньо дотичної з ґрунтом, кількість мікробів завжди більша, ніж у віддалених від берега місцях. Найбільша кількість мікробів припадає на глибину від 5 до 20 м [1 - 6].

Найбільша кількість бактерій відзначається з травня по липень (завдяки температурним змінам). Кількість бактерій у воді різко зростає в дощову погоду і зменшується в сонячну.

Іл набагато багатше бактеріями, ніж вода. Причому максимальна їх кількість припадає на поверхневий шар мулу, утворюючи плівку з бактерій, яка відіграє важливу роль у житті водойми. Особливо значна роль нитчастих серобактерій і залізобактерій. Сірководень окиснюється сірчаними бактеріями в сульфати.

У кожному грамі мулу міститься:

- 1) від 100 тис. до 1 млн бактерій, які відновлюють сульфати;
- 2) від 10 до 100 тис. тіонових бактерій;
- 3) близько 1 000 нітрифікуючих бактерій;
- 4) від 10 до 100 тис. денітрифікуючих бактерій;
- 5) приблизно по 100 анаеробних і аеробних руйнівників клітковини.

Зустрічаються в мулі бактерії, що окиснюють метан і водень, збудники бродіння, анаеробний фіксатор атмосферного азоту та ін. У воді існують переважно безспорові види (97 %), в мулі – в основному спорові (близько 75 %).

Багато бактерій міститься у водах морів і океанів (табл. 6.1). У 1 мл води неглибоких озер міститься приблизно 250 000 бактерій. У морському мулі на 1 г доводиться $367 \cdot 10^6$ бактерій, які важать близько 0,3 мг.

Підземні води – води артезіанських колодязів і ключові – містять в 1 мл близько десятка бактерій.

Невелика кількість бактерій знаходиться в дощовій воді й у снігу (в 1 мл не більше 10 бактерій).

Основне значення під час оцінки санітарного режиму водойм мають бактерії – сапрофіти, які розкладають органічну речовину. За кількістю

сапрофітів у поверхневих водах можна судити про санітарний стан водойм. Сапрофіти – постійні представники мікрофлори людей і тварин.

Таблиця 6.1 – Класифікація водойм за кількістю мікроорганізмів

Кількість колоній, зростаючих на живильному середовищі в 1 мл води	Оцінка водойм
~10	Дуже чисті
10–100	Чисті
100–1000	Помірно забруднені
1000–10000	Забруднені
10000–100000	Брудні
>100000	Дуже брудні

Світ організмів, що населяють водойми, різноманітний. Визначається ця різноманітність екологічними факторами і здатністю мікроорганізмів пристосовуватися до навколишнього середовища. **Екологія** – наука про взаємини тваринного або рослинного організму з навколишнім середовищем. Здатність пристосовуватися до навколишнього середовища призводить до виникнення біоценозів.

Біоценозом називається спільне існування організмів, що належать до різних фізіологічних типів, обумовлене відмінностями їх функцій. Наприклад, бактерії, що розкладають білки з виділенням сірководню, створюють середовище, сприятливе для життєдіяльності сірчаних бактерій. Мікроби, які поглинають кисень, дають можливість розвиватися близьким до себе анаеробам.

За місцем існування організмів розрізняють біоценози: бентос, планктон, перифітон.

Бентос – організми, що заселяють дно, а також розростаються на предметах. Це міцно прикріплені організми або рухомі форми, пов'язані в своєму існуванні з твердим тілом.

Планктон – рослинні і тваринні організми, все життя проводять у підвішеному стані у воді (фіто- і зоопланктон).

Перифітон – водні організми обростань.

Мікроорганізми водойми беруть активну участь у очищенні води. Біологічний метод дослідження водойм заснований на тому, що кожному ступеню забрудненості води відповідає певна мікрофлора та мікрофауна. Здатність гідробіонтів, обумовлену їх фізіологічними особливостями, жити у воді з певним ступенем забруднення органічними сполуками прийнято називати **сапробністю**.

2 Зони сапробності

Для кожної зони сапробності (ступеня забрудненості) встановлені показові організми, наявність яких у водоймі свідчить про певну якість води. Всі води поділяються на чотири категорії (зони), (табл. 6.2):

1) **полісапробна зона** (зона сильного забруднення) відповідає свіжому забрудненню водойми побутовими стічними водами. Вона характеризується наявністю великої кількості складних білкових з'єднань. Вільний кисень відсутній, тому протікають біохімічні процеси, що мають відновлювальний характер. Унаслідок розкладання органічних сполук утворюються сірководень, метан, діоксид вуглецю, аміак. Основне населення цієї зони представлено великою кількістю бактерій. Чисельність їх може сягати мільйона і більше в 1 мл води. Розвиваються також безбарвні джгутикові, гриби, в мулі знаходяться малощетинкові черви, якф тубіфіциди. Загальна кількість видів – 30–36.

2) **α -мезосапробна зона** характеризується більшим ступенем розпаду органічних речовин. У воді з'являється невелика кількість кисню, який обумовлює протікання окислювально-відновних процесів. У результаті розпаду білкових з'єднань з'являється велика кількість амінокислот, аміаку. H_2S і CO_2 присутні в невеликих кількостях. Кількість бактерій – сотні тисяч у 1 мл. Поширені джгутикові, гриби, інфузорії. Зустрічаються синьо-зелені й зелені водорості, коловертки. Загальна кількість видів – 70–76.

3) **β -мезосапробна зона** характеризується наявністю продуктів мінералізації органічних сполук – амонійних солей, нітритів, нітратів. Уміст органічних сполук невеликий. У воді достатньо кисню, характер процесів, що протікають – окиснювальний. Різко збільшується кількість видів – 116–133. Кількість бактерій – десятки тисяч у 1 мл. Показовим є переважання зелених, діатомових, синьо-зелених водоростей. Широко представлені коловертки, інфузорії, нижчі ракоподібні, комахи, риби.

Це зона водойм зі стабільним санітарним режимом.

4) **олігосапробна зона** – зона чистої води. Органічні речовини відсутні. Азот присутній у формі нітратів. Вода насичена киснем. Кількість бактерій невелика (до 1000 в 1 мл).

Іноді виділяють п'яту зону – **катаробну**, відповідну найчистішим водам. До цієї зони належать ґрунтові, пластові, мінеральні води, очищені природні води, оброблені хлором, озоном.

Під час оцінки води потрібно враховувати не окремі організми, що належать до шкали сапробності, а суму видів, характерну для зазначеної зони. Отже, санітарну оцінку води треба засновувати на біоценозах, властивих цій зоні сапробності.

3 Самоочищення водойм

Хімічний склад кожної водойми на поверхні Землі формується під впливом комплексу чинників, властивих цій території в природних умовах. Хімічний склад зазнає змін за сезонами.

Таблиця 6.2 – Основна характеристика зон сапробності

Показник	З О Н А			
	Полісапробна	α -мезосапробна	β -мезосапробна	Олігосапробна
Кисневі умови	Анаеробні	Полуанаеробні	Аеробні	
Азотисті сполуки	Білкові речовини	Аміак, амінокислоти	Амонійні солі, нітрити, нітрати	Нітрати
Сірководень	Багато	Чимало	Мало	Немає
Загниття	Загниває		Не загниває	
Вміст бактерій у 1 мл води	Сотні тисяч, мільйони	Сотні тисяч	Десятки тисяч	Сотні, десятки
Перевага окремих видів	Дуже сильне	Сильне	Слабке	Зазвичай слабке
Різноманіття видів	Дуже мале	Невелике	Значне	Дуже велике
Зміна спільноти	Катастрофічна	Часто катастрофічна	Доволі повільна	
Потреба організмів у кисні	Незначна	Слабка	Велика	Дуже велика
Головні групи організмів	Бактерії, безбарвні джгутикові, сірчані бактерії, інфузорії	Гриби, бактерії, синьо-зелені водорості, зелені джгутикові	Синьо-зелені, діатомові, зелені водорості, зелені джгутикові, інфузорії, коловаткі, ракоподібні	Зелені, діатомові водорості, перідіней, хрізомонади, коловертки, меланки, губки, ракоподібні, риби

Зміни, що виникають під впливом забруднення стічними водами, створюють у водоймі нові концентрації компонентів, що не відповідають умовам водойми.

Під впливом *фізичних* (розведення, осадження грубодисперсних домішок), *фізико-хімічних* (коагуляція колоїдів), *хімічних* (гідроліз, окиснювально-відновні процеси) і *біологічних* процесів якості води у водоймі через деякий час знову поліпшується, тобто відбувається **самоочищення**.

У процесі самоочищення від органічних речовин головна роль належить біологічним процесам.

У водоймах із проточною водою самоочищення здійснюється швидше, ніж у водоймах із уповільненим стоком. Це пов'язано з кращою аерацією води й більшою швидкістю окиснення органічних речовин.

Донні відкладення водойм також піддаються біохімічному розпаду, але характер процесів тут інший, ніж у товщі води. Донний мул є хорошим сорбентом органічних речовин, на його поверхні відбуваються інтенсивні біохімічні процеси.

Розрізняють три *групи біоценозу дна*:

- 1) накопичувачі органічної речовини;
- 2) мінералізатори;
- 3) захоронітелі.

У малозабруднених водоймах населення дна представлене в основному мінералізаторами (90 %). У штучних каналах, облицьованих щебенем, бетоном, створюються умови для розвитку гідробіонтів-накопичувачів. Мінералізація органічних речовин у них утруднена. Умови для накопичення органічних речовин створюються і у водосховищах. Зазвичай тут в результаті самоочищення в донних відкладеннях залишається до 50 % органічних речовин.

Швидкість і інтенсивність процесів самоочищення залежать від температури. Так, за температури 10 °С найбільша кількість бактерій зазвичай спостерігається через 50 годин, а за 20 °С – через добу. Процес самоочищення водойми за значного забруднення проходить через всі зони сапробності з відповідною зміною біоценозів. Розкладання складних органічних сполук у аеробних умовах здійснюється мікроорганізмами до простих форм.

В анаеробних умовах утворюються продукти розпаду, які можуть мати більшу токсичність, ніж вихідні, наприклад, меркаптани, органічні кислоти, сірководень, метиловані похідні ртуті та ін. Основна роль у самоочищенні водойми від органічних речовин, які біологічно розкладаються, належить бактеріям. Крім них у цьому процесі беруть участь водорості, гриби, найпростіші. Поміж різними групами гідробіонтів існує взаємозв'язок.

Процес біологічного самоочищення водойми здійснює вся спільнота гідробіонтів, що утворюють єдину екологічну систему. Забруднення водойми токсичними речовинами сприяє порушенню цілісності екосистеми й уповільненню процесів самоочищення. Активність біологічного самоочищення залежить від чинників зовнішнього середовища, але ця здатність не безмежна.

Роль зоопланктону в процесі самоочищення полягає в зниженні біомаси та продукції фітопланктону. Одночасно продукти життєдіяльності зоопланктону стимулюють процес фотосинтезу і приріст біомаси фітопланктону. Таким чином, зоопланктон певним чином регулює кількість фітопланктону у водоймі.

У процесі самоочищення важливу роль відіграє **вища водна рослинність**. Водні рослини сприяють поліпшенню санітарного режиму водойми, є споживачами неорганічних форм біогенних елементів, але при їх масовому розвитку відбувається засмічення, і в період відмирання спостерігається самозабруднення водойми рослинними залишками.

Велику роль у розкладанні органічних речовин виконують **організми обростань** (перифітон). Роль водоростей полягає в продукуванні кисню та створенні сприятливих умов для мікроорганізмів, що окиснюють органічні речовини. Крім того, вони самі використовують органічні сполуки як поживних речовин.

Найпростіші сприяють видаленню тонкої суспензії та колоїдних домішок, а також знищують бактерії. Кількість бактерій, яка може перероблятися найпростішими, досягає 30 000 клітин для однієї особини.

Коловертки, нижчі ракоподібні сприяють коагуляції й осадженню завислих речовин.

Мікроорганізми здатні акумулювати радіоактивні ізотопи.

Потрапляють у водойму пестициди, ПАР, солі важких металів, які інгібують (сповільнюють) процеси біологічного самоочищення, а при високих концентраціях викликають відмирання організмів біоценозу.

Потужним біологічним фактором самоочищення водойм і ґрунту є мікроорганізм *Bdellovibrio bacteriovorus* – «бактеріопіявка», виділений із ґрунту. Цей вид бактерій був відкритий у 1962 році *Штольцем*. Вид є паразитом бактерій; це порівняно невеликий, дуже рухливий вібріон із дуже товстим джгутиком. Зустрівши бактерію-господаря, він прикріплюється до її клітинної стінки кінцем, протилежним тому, на якому розташований джгутик, і в ній розмножується. На рисунку 6.1 показано, як це виглядає на електронній фотографії.

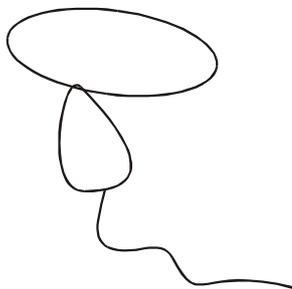


Рисунок 6.1 – *Bdellovibrio bacteriovorus* – «бактеріопіявка»

Цей мікроорганізм має високу бактерицидну активність до багатьох видів бактерій, у тому числі патогенних.

Бделловібрію не має специфічності й використовує для харчування не тільки живих, але й мертвих бактерій. У процесі самоочищення водойми відбуваються процеси як хімічного, так і біохімічного окиснення.

Завершується процес самоочищення нітрифікацією. Хімічне окиснення продовжується кілька годин і залежить від природи сполук. Біохімічне окиснення триває кілька діб. Якщо виразити концентрацію органічних домішок через БПК, то можна охарактеризувати швидкість розкладання їх через константу, оскільки біохімічний розпад можна описати рівнянням реакції першого порядку (враховує концентрацію тільки одного компонента):

$$C = C_0 e^{-Kt} \quad \text{чи} \quad \ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -Kt, \quad (6.1)$$

користуючись яким, можна обчислити константу швидкості біохімічного розкладання органічної речовини K . Для розрахунку K користуються методом визначення БПК за кратними термінами, тобто через 2 і 4, 3 і 6, 5 і 10 діб. Підставляючи значення БПК замість C , отримуємо:

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{\text{БПК}_{2t}}{\text{БПК}_{2t} - \text{БПК}_t}, \quad (6.2)$$

де t – кількість діб.

Зі стічними водами у водойму потрапляють і патогенні мікроорганізми. Тому процеси бактеріального та вірусного самоочищення мають велике значення для запобігання інфекціям.

Тривалість виживання патогенних мікроорганізмів залежить від багатьох факторів:

- 1) біологічні особливості збудників захворювання;
- 2) кількість мікроорганізмів, що потрапляють у водойму;
- 3) особливості водойми;
- 4) температурний режим;
- 5) комплекс гідрометеорологічних чинників;
- 6) супутня мікрофлора і мікрофауна.

У разі великого бактеріального забруднення води патогенними мікроорганізмами термін їх виживання у водоймі збільшується. Цьому сприяє і надходження у водойму біологічного субстрату, на якому розвиваються патогенні мікроби.

Такі патогенні мікроорганізми, як збудники холери, дизентерії, переносять заморозування, тому спалах інфекційних захворювань може статися в теплий період наступного року.

У процесі самоочищення і за біологічного очищення стічних вод велику роль відіграють бактеріофаги. Сильну бактерицидну дію мають продукти життєдіяльності деяких водоростей і грибів.

Патогенні мікроорганізми поїдаються простими: вйчастими інфузоріями, амебами, коловертками, ракоподібними та черв'яками.

Біоценоз водойм поділяється на дві групи:

– **власний (автохтонний)**, обумовлений фізичними і хімічними властивостями води та її походженням;

– **алохтонний**, що надходить з різних джерел забруднення.

У незабруднених водоймищах і водотоках, в яких розвиваються нормальні флора і фауна, немає умов для розвитку патогенних хвороботворних бактерій. Негативний вплив на їх життєдіяльність насамперед здійснює температура навколишнього середовища. Паразитуючи в організмі людини, ці мікроби адаптувалися до температури +37 °С, а в природній воді температурний режим для них виявляється несприятливим.

Крім того, в природних водах недостатньо поживних речовин і солей, звичних для патогенних бактерій. Не сприяє їх життєдіяльності також розвиток вищої водної рослинності, яка продукує кисень у результаті фотосинтезу, і наявність мікробів-антагоністів, що виділяють у воду антибіотичні речовини.

За значного забруднення водойми господарсько-побутовими стічними водами, а також у водосховищах у період їх цвітіння сапрофітна і навіть патогенна мікрофлора може не тільки зберігатися у воді, але і розмножуватися. Основними джерелами надходження патогенних мікроорганізмів у водойми є господарсько-побутові стічні води.

4 Санітарно-бактеріологічна оцінка води Грунтується з розрахунку того, що в ній переважає алохтонна мікрофлора, представниками якої є показники її бактеріального забруднення [3-8].

Бактеріальними показниками забруднення води є:

1) сапрофітні бактерії здатні рости на стандартних м'ясопептонних поживних середовищах і вказують на надходження у водойму органічних речовин, що розкладаються; забруднення сапрофітами виражається мікробним числом;

2) бактерії – мешканці кишечника людей і домашніх теплокровних тварин, які вказують на забруднення води фекальними масами.

Загальноприйнятим бактеріологічним показником фекального забруднення води є **бактерії групи кишкової палички *Escherichia coli***. Існує три типи кишкової палички, що відрізняються культуральними властивостями, а також група *B. paracoli* (подібні коли). Проте в стандартних методах дослідження проводиться облік всієї групи кишкової палички.

Бактерії групи кишкової палички (БГКП) є основним показником під час оцінки бактеріального забруднення питної води, ступеня очищення та знезараження стічних вод, води джерел водопостачання, морів, плавальних басейнів.

В якості стандартів деяких країн (США, Великобританія) прийняті ентерококи. У нашій країні вони використовуються в якості додаткового тесту. Вони входять до складу постійної мікрофлори кишечника людини і поряд із БГКП у величезних кількостях містяться в стічних водах.

Для оцінки санітарного режиму водойм може бути використано відношення БГКП до групи ентерококів. За забруднення водойми стічними водами, які не піддавалися знезараженню, БГКП переважають над групою ентерококів. У разі знезараження стічних вод БГКП відмирають швидше і співвідношення числа БГКП до кількості ентерококів зменшується майже до одиниці.

У великих містах до якості води за бактеріологічними показниками висуваються більш суворі вимоги: коли-індекс не більше 2, коли-титр не менше 500. За наявності бактеріального забруднення води вище допустимих норм проводяться додаткові дослідження на присутність бактерій – показників свіжого фекального забруднення – кишкових паличок переважно *Escherichia coli*. Їх наявність встановлюють за здатністю ферментувати лактозу до кислоти і газу за 43 °С у присутності інгібіторів сторонньої мікрофлори.

СанПіН на питну воду передбачає відсутність у воді мікроорганізмів зоо- та фітопланктону, видимих неозброєним оком. Тому для контролю ефективності процесів очищення і знезараження води на очисних спорудах водопроводу проводиться **гідробіологічний аналіз**. Результати гідробіологічного аналізу виражають числом клітин мікроорганізмів у 1 м³ води. У цьому випадку, якщо хоча б у одній із досліджуваних проб коли-індекс перевищує 10 000, необхідне проведення додаткових досліджень для уточнення та ідентифікації бактеріального забруднення: ентерококів, бактеріофагів, кишкових паличок, патогенних кишкових мікроорганізмів. Наявність *Escherichia coli* у кількості більше 1 000 в 1 л води вказує на свіже забруднення водойми побутовими стічними водами. Відношення числа БГКП до кількості *Escherichia coli* в такому випадку зазвичай менше 10. Така водойма не може бути використана для водопостачання. Наявність фекального забруднення вказує і значна кількість ентерококів у пробі води (більше 1 000).

Для характеристики якості води підземних вододжерел проводиться санітарно-бактеріологічне обстеження на загальний вміст бактерій, БГКП і додатково на ентерококи, оскільки вони більш стійкі до дії низької температури і мають більш тривалий період виживання в підземних водах порівняно з БГКП.

Забруднення водойми проявляється в порушенні **біологічної рівноваги**, в створенні якої беруть участь всі мікроорганізми водойми:

- 1) зміна фізичних, фізико-хімічних властивостей води, токсичну дію на гідробіонти;
- 2) вплив на процеси, що протікають у біоценозах водойм;
- 3) стабілізація умов у водоймі в процесі самоочищення.

Інтенсивність, характер і тривалість впливу визначаються властивостями забруднень. Так, сполуки-відновники легко окиснюються розчиненим у воді киснем, викликають різке порушення санітарного режиму водойми відразу ж після спуску стічних вод. І навпаки, деякі органічні сполуки, що біологічно не розкладаються (хлорорганічні пестициди) можуть виявлятися за сотні кілометрів від місця їх потрапляння у водойму.

Забруднення, що надходять у водойму із зовнішніх джерел, викликають первинне забруднення водойми. У той же час з'єднання, які надходять у водойму, піддаються трансформації, видозмінюються, що супроводжується зміною їх властивостей і ступеня впливу на мікроорганізми водойми. Наприклад, сполуки важких металів в природних водах швидко осідають, викликаючи забруднення донних відкладень. Але за зміни умов (збільшення або зниження рН) розчинність їх може збільшуватися, і вони викликають вторинне забруднення води водойми.

Рослинні та тваринні організми, що розвиваються у великій кількості, після відмирання також викликають вторинне забруднення водойми, сприяючи підвищенню в ньому вмісту органічної речовини (**евтрофікація**) [1].

Надходження великої кількості біогенних елементів викликає посилений розвиток вищих водних рослин, що сприяє заростанню і засміченню водойм, каналів та інших водойм. Масове відмирання фітопланктону та водної рослинності призводить до збільшення органічної речовини в донних відкладеннях і поживних речовин у товщі води, тобто відбувається евтрофікація водоймища.

Речовини, що утворюються в процесі життєдіяльності мікроорганізмів, як і самі мікроорганізми, можуть стати причиною погіршення якості води, особливо у водоймах із уповільненим стоком.

Найчастіше проявом життєдіяльності мікроорганізмів є цвітіння водойм, обростання, поява запахів і присмаків у води.

У зв'язку з активним великим гідробудівництвом і створенням штучних водойм – водосховищ, каналів, гребель – всі найбільші річки перетворилися в каскади водойм із уповільненим стоком, тобто створилися сприятливі умови для цвітіння води. Наприклад, у Дніпропетровському водосховищі спостерігаються плями цвітіння, в яких біомаса синьо-зелених водоростей досягає 40 кг/м³.

Навіть невелике цвітіння може значно знизити органолептичні якості води, оскільки гідробіонти, накопичуючись на фільтрах і розкладаючись, можуть бути джерелом запахів і присмаків.

У глибоких водоймах цвітіння відбувається у верхніх шарах, в мілководних – по всій глибині. Під час цвітіння переважає один або два види мікроорганізмів. На початку весни спостерігається цвітіння діатомових водоростей, при цьому вода набуває жовто-коричневий колір. Найбільш поширеними діатомовими водоростями, що викликають цвітіння, є астеріонелла (*Asterionella*), сінедра (*Synedra*), мелозіра (*Melosira*). У середині літа відбувається цвітіння синьо-зелених водоростей. Характерні представники – Анаб (*Anabaena*), осцилятор (*Oscillatoria*), які надають воді блакитно-зелений колір і неприємний присмак і запах. Велика кількість синьо-зелених водоростей погіршує умови існування інших водних організмів. Значно знижується кількість бактерій-сапрофітів. За масового відмирання водоростей після цвітіння спостерігається різке збільшення числа бактерій-мініралізаторів.

Водорості виділяють особливі речовини, токсичні не тільки для бактерій, але і для інших гідробіонтів, а також для домашніх тварин і людей.

Оскільки органічні речовини синьо-зелених водоростей використовуються анаеробними бактеріями, у місцях їх скупчення починає бурхливо розвиватися мікрофлора, яка також може бути джерелом токсинів. Гнильний розпад водоростей і бурхливий розвиток бактерій призводять до утворення аміаку, сірководню та інших газів, збіднення води на кисень.

Існує дві точки зору на причину загибелі риб у період інтенсивного розвитку синьо-зелених водоростей. Одні дослідники стверджують, що загибель риб викликають токсини синьо-зелених водоростей, інші пов'язують загибель риби з розвитком гнильних процесів, що викликають дефіцит кисню.

Токсини синьо-зелених водоростей – це алкалоїди, за хімічним і патологічним ефектом близькі до отрути гриба блідої поганки, що мають протоплазматичне і гемолітичну дію. Так, водорість *Mikrocystis* містить сильну печінкову отруту і фікоціан, що викликає ураження шкіри у худоби.

Синьо-зелені водорості небезпечні і для людини: спалахи епідемій виникають у період цвітіння водойм. Передбачається, що кишкові захворювання, що виникають у цей період, обумовлені дією токсичної речовини, що утворився під час розкладання водоростей. Синьо-зелені водорості можуть викликати алергічні захворювання й запальні процеси шкірної тканини людини. Ступінь отруйності водоростей залежить від їх концентрації у воді. Так, анабена токсично діє на гідробіонтів за таких умов:

- 1) концентрація водорості досягає 1 млн клітин в 1 мл води;
- 2) рН – 7–8;
- 3) культура водорості знаходиться в логарифмічній стадії зростання, а кількість живих клітин не менше 70 %.

Неотруйні водорості (подулярія та формідіум) інгібують токсичну дію, яка чиниться анабною.

Під час масового розвитку синьо-зелених водоростей ускладнюється робота водозабірних споруд, погіршується фільтрація води.

Профілактика цвітіння полягає в попередженні забруднення водойми органічними речовинами, що біологічно розкладаються біогенними елементами. Практикується також створення умов для розвитку вищої водної рослинності, яка є споживачем біогенних речовин.

Фізичні методи боротьби з цвітінням полягають у штучному замутнінні води глиною, аерації, застосуванні усмоктування для видалення водоростей.

Для виділення водоростей у системах технічного водопостачання, у невеликих водоймах і резервуарах можливе застосування коагуляції сульфатом алюмінію.

Хімічні методи боротьби з цвітінням полягають у обробці водойм пестицидами, сульфатом міді. Проте через токсичність цих сполук застосування їх обмежене.

Перспективним методом боротьби з цвітінням водойм є біологічний, заснований на використанні мікроорганізмів – антагоністів водоростей. Життєдіяльність мікроорганізмів може бути небезпечною для роботи очисних споруд, що виявляється в появі присмаків і запахів у води. Хімічний склад з'єднань, що обумовлює появу запаху, залежить від виду мікроорганізмів. Так,

актиноміцети в умовах утрудненої аерації надають воді землистий запах. Залежно від утворених метаболітів запахи можуть бути різними: ароматичний, сірководневий, пліснявий, гнильний. У цей період м'ясо риби також набуває присмак.

За масового розвитку вищої водної рослинності (макрофітів) відбувається заростання водойм. У результаті знижується пропускну здатність мереж і каналів. У заростях створюються умови для відкладення личинок комах. Вторинне забруднення водойми продуктами розпаду макрофітов порушує кисневий режим водойми, створює умови для масового розвитку мікроорганізмів планктону, обростань.

Для боротьби із заростанням рекомендуються різні методи: скошування рослин, затінення водойми шляхом посадки дерев на берегах каналу. Хімічні методи боротьби ті ж, що і під час цвітіння. Біологічні методи полягають у розведенні трав'яїдних риб (білий амур, товстолоб) і тварин (ондатри, нутрії).

Роботі споруд технічного і питного водопроводу завдають великої шкоди мікроорганізми біообростання. Вони викликають засмічення й обростання водозабірних споруд, внутрішніх стінок труб, викликаючи їх звуження, порушують режим теплообміну. Мікроорганізми обростань часто викликають або підсилюють корозію металів. У морській воді, особливо теплій, обростання розвиваються швидше. Продукти виділення мікроорганізмів, наприклад CO₂, можуть викликати корозію бетону. Під час транспортування стічних вод трубами створюються умови для розвитку анаеробів, наприклад, бактерій, які відновлюють сульфати, що супроводжується утворенням таких корозійних агентів, як сірководень.

Деякі види цвілевих грибів (*Penicillium*, *Aspergillus*) і актиноміцетів викликають корозію натурального каучуку.

На характер і інтенсивність обростань впливають хімічний склад води, температура і швидкість потоку, концентрація розчиненого кисню, вміст поживних речовин, властивості матеріалу, що контактує з водою.

У чистій воді обростання найчастіше обумовлені залізобактеріями, сіркобактеріями, водоростями, молюсками.

Обростають залізобактеріями гідротехнічні споруди і теплообмінна апаратура. Наявність у воді сірководню створює умови для розвитку сіркобактерій, що окиснюють його до сірки або сульфатів (рис. 6.2).

Максимальний розвиток організмів обростання відбувається за температури, близької до оптимальної, наприклад, залізобактерії розвиваються за низької температури (7–10 °С). Для багатьох мікроорганізмів оптимальною є температура 15–20 °С і 35–37 °С. Зміна температури супроводжується зміною мікроорганізмів обростання.

За зниження температури в забруднених водах переважають нитчасті бактерії і гриби. Влітку гриби в обростаннях практично відсутні, розвиваються нитчасті та зооглейні бактерії.

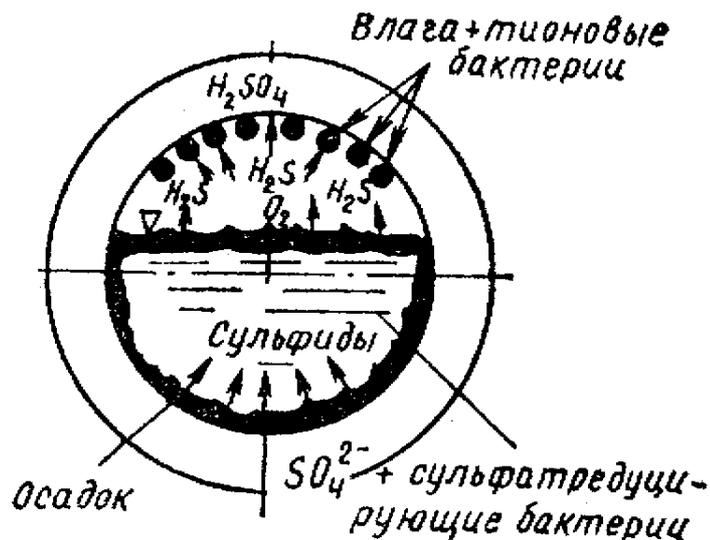


Рисунок 6.2 – Схема бактеріальних процесів у каналізаційному колекторі

Якщо використовувати для охолодження промислових установок воду, забруднену органічними речовинами, обростання зооглейними бактеріями відбувається вже через 10 годин, нитчастими – через 36 годин. Основні організми обростають: зооглейні (*Zooglea ramigera*), нитчасті бактерії (*Sphaerotilus natans*, *Cladothrix*), нитчасті форми залізобактерій – лептотрікс (*Leptothrix*), кренотрікс (*Crenotrix*), одноклітинні (геліонелла), гриби – мукор, лептомітус, фузариум, найпростіші джгутикові, інфузорії; мшанки, черв'яки (нематоди й олігохети); молюски (дрейссена, мідія, Бітінія, вівінарус та ін.), ракоподібні (балянусів).

У водах, що містять сірководень, розвиваються сіркобактерії (*Beggiatoa alba*), які представляють собою нитки, що плавають у воді. Зазначена концентрація сірководню утворює пучки цих ниток, що викликають механічну закупорку труб.

Підвищений вміст сульфатів призводить до масового розвитку бактерій, які відновлюють сульфати до сірководню і сульфідів, які викликають сильну корозію металевих труб (рис. 6.3) [3-8]

Обростання у водопровідній мережі і теплообмінній апаратурі викликаються залізобактеріями. Вони належать до автотрофів і тому живуть у воді з малою кількістю органічних речовин (окиснюваність більш 5 мг O₂/л). Вони поглинають із води сполуки Fe²⁺ і окиснюють їх до Fe³⁺:



Серед залізобактерій зустрічаються нитчасті форми, які виділяють утворений Fe(OH)₃ в слизову оболонку, загальну для всієї нитки і одноклітинні форми, у яких гідроксид заліза відкладається у вигляді спіральних ниток поза клітиною.

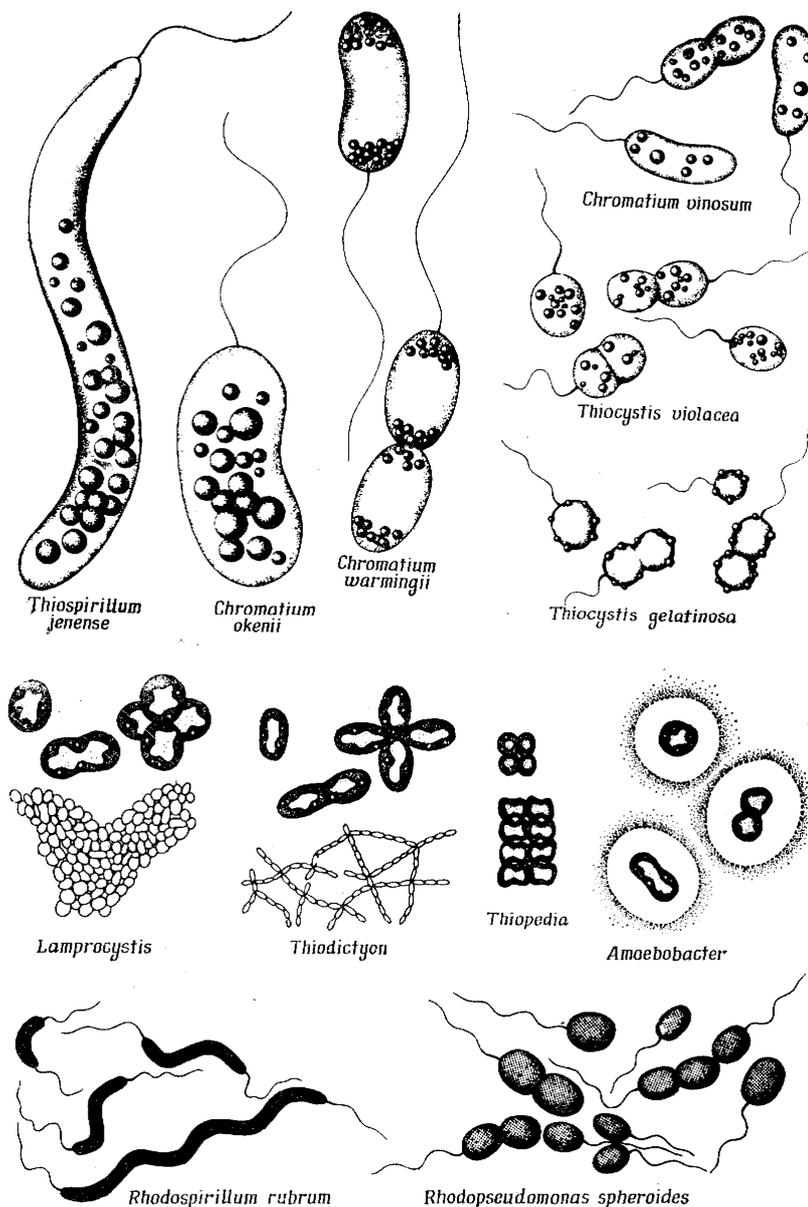


Рисунок 6.3 – Деякі представники сірчаних (Thiorhodaceae) і несірчаних (Athiorhodaceae) пурпурних бактерій

Fe (OH)₃ знижує смакові якості води. За концентрації заліза у воді вище 0,8–1,0 мг/л за сприятливих умов залізобактерії можуть викликати повне заростання внутрішньої поверхні. Залізобактерії можуть розвиватися і за вмісту заліза 0,1–0,3 мг/л. Крім того, вони сприяють швидкому зникненню залишкового хлору, знижуючи його знезаражувальну дію.

Найбільш ефективним способом боротьби з обростаннями є зміна властивостей води (знезалізнення, видалення сірководню, зниження надходження органічних речовин), запобігання цвітінню і розвитку вищої водної рослинності у водоймі – джерелі водопостачання.

Для видалення обростань у трубопроводах застосовується промивання гарячою водою (45 °С) і різні типи хімічного впливу: хлорування, уведення речовин, що викликають відмирання мікроорганізмів обростання.

Для боротьби з біологічними обростаннями, що викликаються зооглійними, нитчатими бактеріями, грибами, дрейссеною, застосовується хлорування води. Для запобігання розвитку водоростей воду обробляють сульфатом міді (CuSO_4) 0,2–0,4 мг/л Cu^{2+} (у градирнях, ставках-охолоджувачах, бризкальних басейнах).

Для очищення води, що надходить на водопровідні очисні споруди і містить природні мікроорганізми (бактерії – сапрофіти й автотрофи, водорості, найпростіші), її попередньо хлорують для зниження чисельності мікроорганізмів, а потім піддають коагулюванню. При цьому мікроорганізми сорбуються зростаючими пластівцями і переходять у осад.

Висока ефективність очищення досягається в контактних освітлювачах. Фільтрування води через освітлювач поєднують із контактною коагуляцією завислих часток. Разом із грубодисперсними й колоїдними домішками осідають і мікроорганізми, при цьому кількість бактерій знижується на 50–95 %.

Робота фільтрів повільної дії заснована на утворенні біоплівки. На зернах завантаження фільтра поступово формується активна плівка, що складається з бактерій, водоростей і інших мікроорганізмів.

Подальше знезараження забезпечує якість води за бактеріологічними показниками.

Мікроорганізми, що утворюють обростання внутрішніх поверхонь водоводів у системах транспортування питної води, не тільки погіршують її якість, а й викликають руйнівні корозійні процеси.

Руйнування труб за участю бактерій відбувається у багато разів швидше, ніж за електрохімічної корозії. Іноді заміна труб потрібна через 10–14 місяців експлуатації.

Під час обстеження таких систем виявлено, що під шарами наростів із залізовмісних мікроорганізмів у зонах анаеробіозу розвиваються сульфатредуючі бактерії. Утворений у результаті сульфід заліза у вигляді чорного маслянистого на дотик з'єднання можна спостерігати під час розрізу труб.

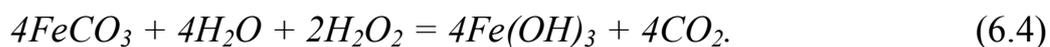
Крім того, можуть бути присутні сульфідутворювачі, здатні відновлювати до сульфідів більш відновлені, ніж SO_4^{2-} , сполуки сірки – SO_3 , S_2O_3 , S^0 біофільну сірку. Наприклад, *E coli* (кишкова паличка) здатна до сіркоредакції з утворенням сірководню до 200 мг/л.

Іноді в процесах утворення сульфідів беруть участь нітроредуючі мікроорганізми. Вони здатні відновлювати до S^{2-} іони SO_3 , S_2O_3 , S^0 .

Отже, в воді водоводів необхідно визначення іонів — SO_3 , S_2O_3 , оскільки динаміка їх змісту дозволяє прогнозувати біопошкодження.

Для розвитку залізобактерій достатня концентрація Fe^{2+} 0,1 мг/л.

Уведення у воду окиснювачів (KMnO_4 , H_2O_2 тощо) безпосередньо перед теплообмінниками призводить до окиснення Fe^{2+} і тим самим позбавляє залізобактерії харчування:



Уведення H_2O_2 в концентрації 0,06–0,1 мг/л знижує концентрацію Fe^{2+} з 0,15 до 0,02 мг/л.

Необхідну дозу H_2O_2 для окиснення Fe^{2+} можна визначити за відношенням: $D_{H_2O_2} = (0,5-1,5)C_{Fe^{2+}}$, або за графіком на рис.6.4.

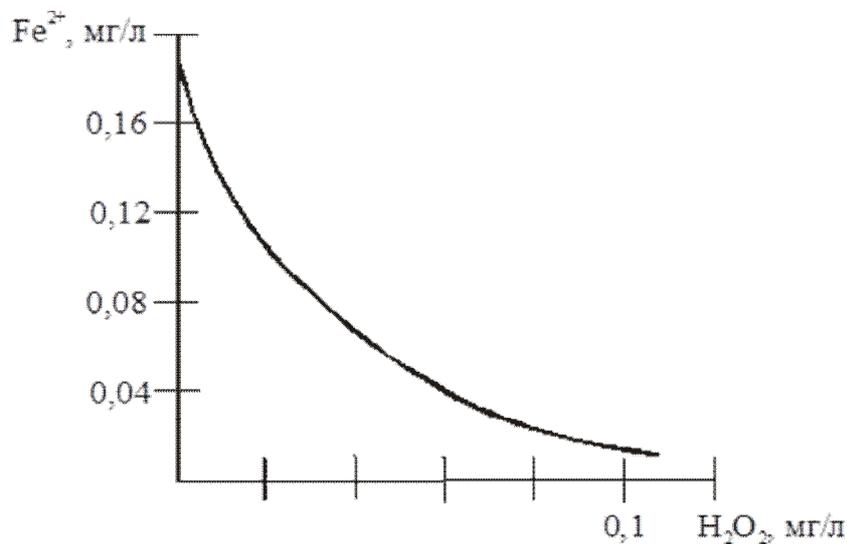


Рисунок 6.4 – Графік визначення дози H_2O_2

Таким чином, дозування перекису водню в незначних кількостях (10 %) запобігає біообростанню й не впливає на корозійну стійкість апаратури.

Контрольні питання

1. Який склад мікрофлори води відкритих водойм?
2. Що таке евтрофікація водойм?
3. Класифікація водойм за кількістю мікроорганізмів.
4. Обростання у водопровідній мережі та теплообмінній апаратурі.
5. Які зони водойм за ступенем мікробного забруднення розрізняють санітарні мікробіологи і за якими критеріями?
6. Які категорії питної води за ступенем мікробного забруднення розрізняють санітарні мікробіологи і за якими критеріями?
7. Самоочищення водойм.
8. Роль «бактеріоп'явки» в очищенні води водойм.

Лекція 7 Біологічне окиснення

1. Типи дихання.
2. Аеробне дихання. Цикл Кребса.
3. Закономірності розвитку культури мікроорганізмів.

1 Типи дихання

Поняття «біохімічне окиснення» включає в себе сукупність окисно-відновних реакцій за участю ферментів. Залежно від спрямованості цих реакцій виділяють і різні типи дихання.

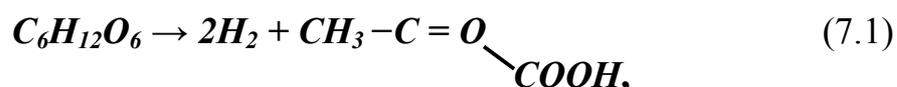
Під час біологічного окиснення відбуваються окиснювально-відновні реакції, що супроводжуються відібранням атомів водню від одних сполук (донорів) і передачею його іншим (акцепторам), або реакції, пов'язані з перенесенням електронів від донора до акцептора. Ці реакції здійснюються за участю ферментів, що належать до класу оксиредуктази.

Процеси дихання, в яких акцептором водню або електронів є молекулярний кисень, називаються **аеробними**. Якщо акцептором є інші сполуки, то такий тип дихання називається **анаеробним**.

Відповідно виділяють дві групи мікроорганізмів: аероби, яким для дихання необхідний кисень (до них належать бактерії-нітріфікатори, залізо- і сіркобактерії, водорості, гриби, найпростіші, коловертки), і **анаероби**, що розвиваються за відсутності кисню.

За аеробного дихання утворюються кінцеві продукти розпаду – CO₂ і H₂O (**повне окиснення**). Якщо окиснення органічних речовин проходить не до кінця — це **неповне окиснення**. За анаеробного дихання розкладання органічної речовини зупиняється на одній із проміжних стадій.

Процес, за якого ферментативна окиснювально-відновна реакція проходить у анаеробних умовах за участю одного з'єднання, а акцептором водню є один із продуктів реакції, називається бродінням. Найчастіше бродіння спостерігається під час розкладання вуглеводів. Бродіння йде в дві стадії: спочатку відбувається розрив вуглецевого ланцюга і відібрання від молекули окиснюваного з'єднання атомів водню, а потім — передача атомів водню відновлюваному органічному сполученню (акцептору), що утворився в ході розкладання. Так, при розкладанні вуглеводів (глюкози, фруктози) в результаті ферментативних процесів на першій стадії утворюється піровиноградна кислота:



з якої на другій стадії утворюються продукти, що є акцепторами водню (масляна кислота, етиловий спирт, ацетон та ін.). Іноді вона сама відновлюється воднем у молочну кислоту (молочнокисле бродіння):



Атоми водню не передаються безпосередньо від окиснюваної речовини до акцептора, а спочатку відновлюють коферменти анаеробних дегідрогеназ – НАД (нікотинамідаденіндинуклеотид) і НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотид фосфат):

1 стадія:



2 стадія:



2 Аеробне дихання, Цикл Кребса

Аеробне дихання є складним процесом, що включає ферментативні окиснювально-відновні реакції, що закінчуються передачею водню кисню (рис.7.1). Аеробне дихання включає дві фази:

1) цикл реакцій, у яких субстрат окиснюється до CO_2 , а атоми водню передаються відновлюваним з'єднанням;

2) передача водню кисню.

Сумарно для піровиноградної кислоти:



Ці процеси пов'язані з синтезом АТФ.

За аеробного дихання виділяється значно більше енергії, ніж за анаеробного. Так, якщо за повного окиснення молекули глюкози утворюється 38 молекул АТФ, то за її бродіння – всього 2. Тому анаеробам доводиться переробляти значно більшу кількість органічної речовини, ніж аеробам для отримання однакової кількості енергії.

Дві молекули піровиноградної кислоти надходять на ферментативний кільцевий «конвеєр», який називають циклом Кребса, на ім'я дослідника, який відкрив його, або циклом трикарбонових кислот, що утворюються в цьому циклі як проміжні продукти. Якщо ферменти гліколізу знаходяться в цитоплазмі клітин, поза клітинних органел, то всі ферменти циклу трикарбонових кислот локалізовані в мітохондріях, у їх внутрішньому міжмембранному просторі, яке заповнене матриксом – напіврідкою білковою речовиною.

Потрапляючи в мітохондрії, піровиноградна кислота окиснюється та перетворюється на багате енергією похідне оцтової кислоти – ацетилкофермент А. Якби піровиноградна кислота перетворювалася в оцтову кислоту, виникло б з'єднання, виражене формулою CH_3-COOH . Проте в ході ферментативної реакції до залишку оцтової кислоти приєднується складна органічна сполука – кофермент А (*HS-CoA*) і утворюється багата енергією молекула

ацетилкофермента А, або, скорочено, **ацетил-КоА**. Перетворення пірвіноградної кислоти в **ацетил-КоА** відбувається за участю гігантського ферментативного комплексу, до складу якого входять 60 білкових молекул трьох типів і приєднані до них переносники електронів.

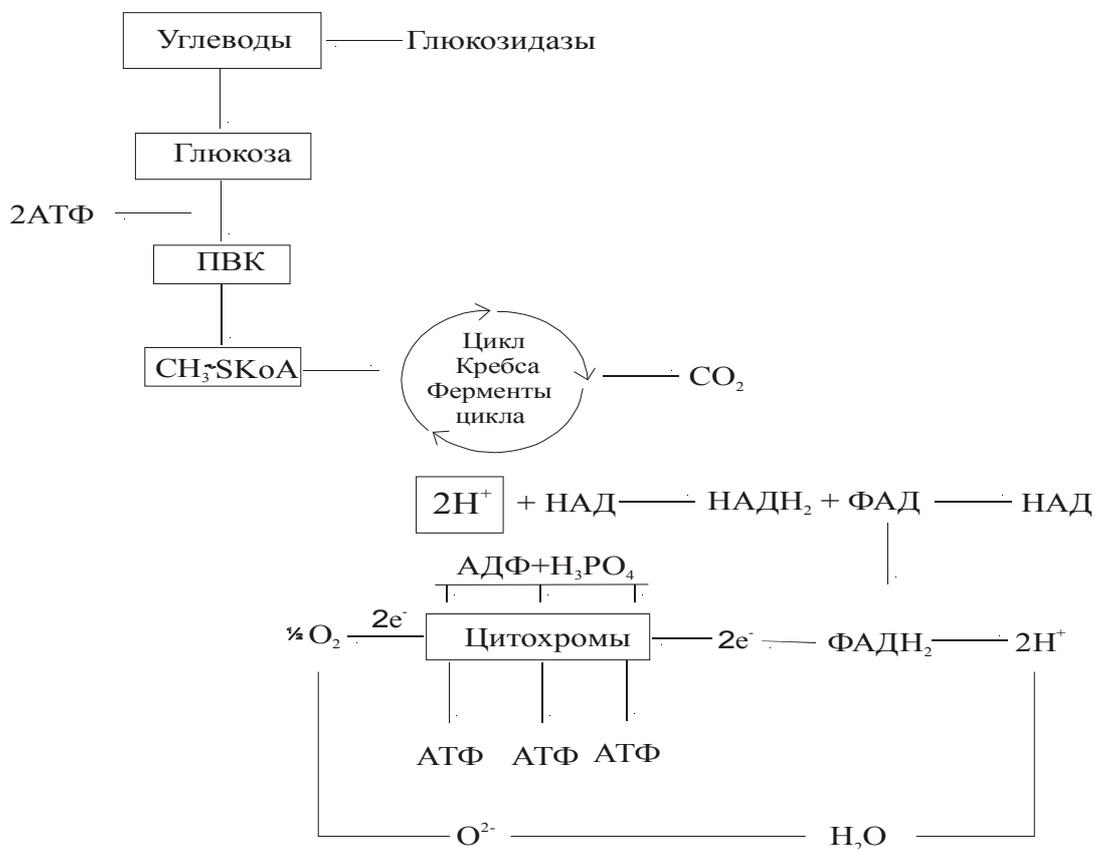


Рисунок 7.1 – Схема окиснення вуглеводів в процесі дихання. Цикл Кребса

Не тільки глюкоза може служити джерелом енергії. Окиснюються в клітинах і жирні кислоти, які утворюються завдяки ферментативному розщепленню жирів ліпазой. У результаті окиснення жирних кислот у кінцевому підсумку також утворюється ацетил-КоА і відновлюються акцептори електронів НАД в НАДН. При цьому відбувається відновлення акцепторів ще одного типу – ФАД в ФАДН (ФАД – це флавінаденіндинуклеотид). Енергія, запасена в циклі трикарбонових кислот, у молекулах НАДН і ФАДН₂, також використовується далі для синтезу **АТФ**.

Істотно, що за окиснення глюкози, жирних кислот і деяких амінокислот утворюється однаковий кінцевий продукт – **ацетил-КоА**. При цьому відбувається «знеособлення» первинного джерела енергії, оскільки **ацетил-КоА** не має ніяких слідів свого походження. Таким способом готується «паливо» для основної біологічної «топки» в мітохондріях. Отже, в цикл трикарбонових кислот надходять молекули **ацетил-КоА** з різних енергетичних джерел.

На наступному етапі циклу трикарбонових кислот ацетил-КоА з'єднується з молекулою шавлеоцтової кислоти, і при цьому утворюється

трикарбонова лимонна кислота (в її кістяку вже не два атоми вуглецю, як у *ацетил-КоА*, а три і, відповідно, при них три карбоксильні групи – COOH).

Лимонна кислота окиснюється в ході подальших чотирьох ферментних реакцій. Лимонна кислота втрачає два вуглецевих атома, за рахунок яких утворюються дві молекули CO_2 . У сумі, в результаті семи послідовних ферментативних реакцій, лимонна кислота перетворюється на шавлеоцтову. Новоутворена молекула шавлеоцтової кислоти з'єднується з новою молекулою ацетил-КоА, що надходить на цей циклічний конвеєр ферментів. При цьому знову утворюється молекула лимонної кислоти, яка поступово окиснюється до шавлеоцтової кислоти, і цикл знову повторюється. У складі лимонної кислоти залишок ацетил-КоА що приєднався, згорає. При цьому утворюється вуглекислий газ, атоми водню й електрони переносяться на акцептори – НАД⁺ і ФАД⁺. Таким чином, енергія хімічних зв'язків органічних речовин, вуглеводів, жирів, білків накопичується в молекулах НАДН, ФАДН₂ і АТФ.

4 Закономірності розвитку культури мікроорганізмів

Закономірності розвитку культури мікроорганізмів одного виду описуються кривою активного зростання, наведеною на рисунку 7.2.

У разі введення мікроорганізмів у середовище, що містить поживні речовини, спочатку відбувається затримання росту (лаг-фаза). Це пов'язано з тим, що мікроорганізмам необхідний певний час для адаптації до нових умов середовища. Наявність лаг-фази пов'язана зі зміною харчування, зовнішніх умов (наприклад, температури, рН), наявністю інгібіторів ферментативних процесів та ін. Знання причин, що обумовлюють наявність фази затримання росту, дозволяє зменшити час, необхідний для адаптації мікроорганізму до даного середовища. Тривалість її може бути використана для характеристики впливу окремих факторів зовнішнього середовища на життєдіяльність мікроорганізмів. У цій фазі приріст біомаси йде за рахунок збільшення клітин мікроорганізмів.

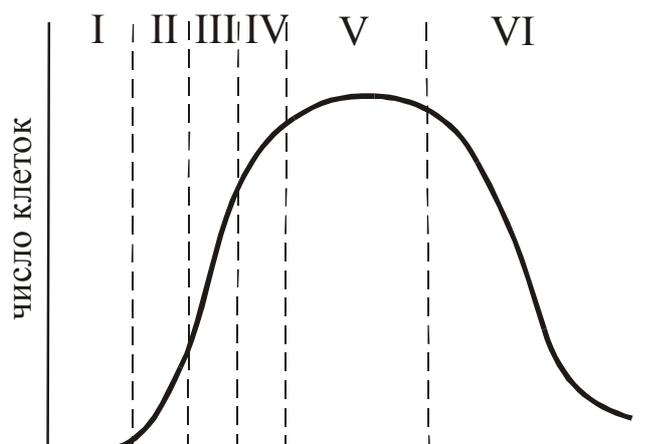


Рисунок 7.2 – Крива активного зростання культури мікроорганізмів
I – лаг-фаза; II – фаза прискореного зростання; III – фаза логарифмічного
росту; IV – фаза уповільненого зростання; V – стаціонарна фаза; VI – фаза
відмирання

Після адаптації починається прискорене зростання культури за рахунок зростання швидкості ділення клітин, що досягає через певний час максимуму. При цьому швидкість росту пропорційна кількості біомаси. У цей час умови є найбільш оптимальними для розвитку мікроорганізмів: достатня кількість поживних речовин за невеликого вмісту продуктів обміну в навколишньому середовищі.

У логарифмічній фазі швидкість росту не змінюється – це період безперервного зростання культури. Якщо витрачаються поживні речовини і відбувається накопичення метаболітів, швидкість розмноження мікроорганізмів поступово знижується, і фаза уповільненого зростання (IV) переходить у стаціонарну (V), в якій кількість утворених клітин приблизно відповідає кількості відмираючих.

Дефіцит поживних речовин і підвищена концентрація продуктів обміну в навколишньому середовищі сприяють відмиранню клітин мікроорганізмів (VI – фаза відмирання). Проте зростання культури не можна розглядати як механічний приріст або зменшення клітин. Фази росту культури супроводжуються фізіологічними змінами в клітинах мікроорганізмів. Молоді клітини, що мають високу інтенсивність метаболізму, поступово старіють, що сприяє зниженню інтенсивності обмінних процесів.

Контрольні питання

1. Біологічне окиснення. Типи дихання.
2. Хімічний склад клітин мікроорганізмів.
3. Енергетичний заряд бактеріальної клітини.
4. Закономірності росту культури мікроорганізмів.
5. Чим характеризується початкова стадія зростання мікроорганізмів?
6. Які ознаки має фаза відмирання?

Лекція 8 Біологічне окиснення різних класів органічних речовин у аеробних умовах

1. Біологічне очищення.
2. Окиснення вуглеводів і жирів у аеробних умовах.
3. Процеси окиснення азотовмісних органічних речовин.
4. Розкладання сірковмісних сполук. Загальна спрямованість процесів.

1 Біологічне очищення

Повне біологічне очищення стічних вод є ефективним способом запобігання забрудненню водою органічними сполуками, що біохімічно розкладаються. Суть її полягає в розкладанні органічних речовин, що містяться в стічних водах, в результаті життєдіяльності мікроорганізмів.

На очисних спорудах міської каналізації біологічному очищенню піддаються побутові та виробничі стічні води. Останні у міру необхідності, наприклад, за наявності токсичних сполук, піддаються попередній обробці.

Ефективність роботи станцій біологічного очищення визначається підбором оптимальних умов для життєдіяльності мікроорганізмів біоценозів очисних споруд.

Здатність мікроорганізмів споживати сполуки різноманітного хімічного складу і високі адаптаційні можливості до постійно змінюваних умов довкілля дозволяють очищати стічні води від органічних забруднень, що містяться в побутових стічних водах, а також від речовин, що біохімічно розкладаються, які надходять з виробничими стічними водами.

Розкладання органічних речовин у процесі біологічного очищення може відбуватися в **аеробних і анаеробних умовах**. Аеробні процеси зазвичай використовують для окиснення забруднень, що залишаються в стічній воді після відстоювання, а саме: розчинених, колоїдних і тонкодиспергованих органічних домішок, що не виділилися під час відстоювання. Окиснення здійснюється аеробними мікроорганізмами в природних (біологічні ставки, поля зрошення і поля фільтрації) умовах і на штучних очисних спорудах (аеротенки, біо- і аерофільтри). В аеротенках, окиснювальних ставках відтворюються процеси самоочищення, що протікають у водоймах. У біофільтрах, аерофільтрах, на полях зрошення і полях фільтрації відтворюються ґрунтові процеси самоочищення. Ефективність видалення органічних речовин визначається технологічними особливостями очисних споруд і вибором оптимальних умов для життєдіяльності мікроорганізмів [7-12]. Оптимальне навантаження за органічними речовинами, температура, рН, кількість розчиненого кисню, відсутність токсичних домішок визначають ці умови.

Анаеробні біохімічні процеси використовують для розкладання осаду стічних вод і іноді в якості попередньої ступені очищення концентрованих виробничих стічних вод. Розкладання органічних речовин йде з утворенням метану, діоксиду вуглецю, азоту, сірководню, водню і продуктів неповного розпаду органічних сполук. Цей спосіб обробки осаду стічних вод називається **бродинням**, яке здійснюється в септиках, двоярусних відстійниках і метантенках.

2 Окиснення вуглеводів і жирів в аеробних умовах

Аеробні процеси розкладання безазотистих органічних речовин надзвичайно різноманітні. У присутності кисню біохімічному розпаду піддаються вуглеводи, жири органічні кислоти, вуглеводні та інші сполуки. Органічні речовини мають попередній і основний шляхи окиснення. Попереднє руйнування органічних сполук відбувається в результаті гідролізу або окиснення їх до таких речовин, які потім вступають на основний шлях біохімічного окиснення.

Окиснення целюлози і пектинових речовин. Розкладання целюлози починається з гідролізу спочатку до дисахариду целлобіози, а потім до глюкози:



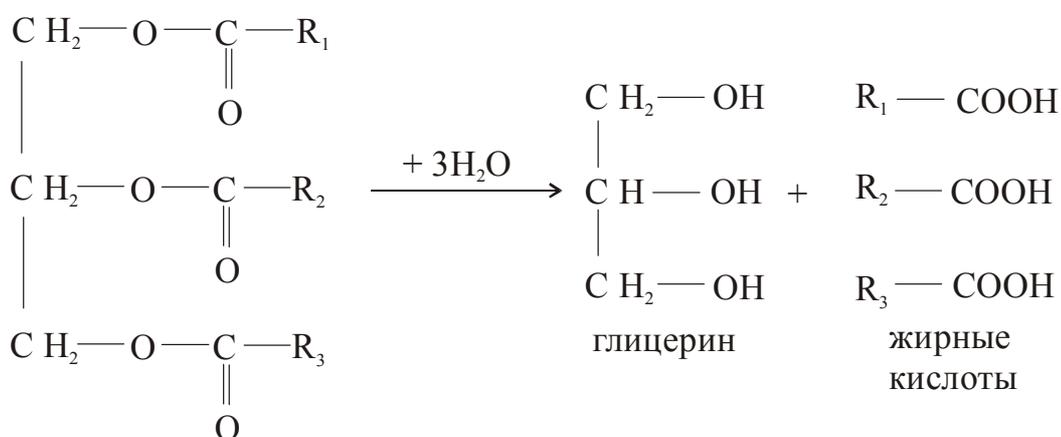
Піровиноградна кислота, що утворилася під час окиснення глюкози в результаті ферментативних реакцій, вступає в цикл трикарбонових кислот (Кребса), в результаті чого виділяється діоксид вуглецю, а звільнюються атоми водню, які в кінці дихального ланцюга зв'язуються киснем у воду. Сумарно схему цих складних ферментативних процесів із урахуванням тільки вихідної речовини і кінцевих продуктів можна записати в такий спосіб:



Розкладання целюлози в аеробних умовах здійснюється низкою бактерій, актиноміцетами і грибами. Найчастіше це бактерії з роду *Cytophaga*, а також роду *Cellvibrio*. Із актиноміцетів здатністю до окиснення целюлози мають роди *Micromonospora*, *Streptomyces*, із грибів – *Fusarium*, *Aspergillus* і деякі інші. Гриби повільно розкладають целюлозу, при цьому часто спостерігається неповне окиснення з утворенням лимонної, щавлевої, оцтової, мурашиної та інших кислот.

Пектинові речовини, що входять до складу оболонок рослинних клітин і заповнюють міжклітинний простір, за своєю хімічною природою є складними полімерними сполуками. В аеробних умовах вони руйнуються деякими пліснявими грибами. Окиснення пектинових речовин теж відбувається в дві стадії. Спочатку в результаті гідролізу утворюються менш складні водорозчинні сполуки, які потім окиснюються до діоксиду вуглецю і води.

Окиснення жирів. Розкладання жирів починається з їх гідролізу під впливом ферменту – ліпази, що міститься в багатьох мікроорганізмах – пігментних бактеріях, актиноміцетах, цвілевих грибах пологів *Aspergillus* і *Penicillium*:



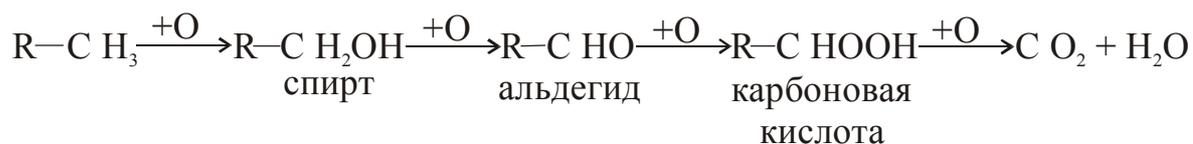
Трьохатомний спирт – гліцерин швидко окиснюється до діоксиду вуглецю та води. Вищі жирні кислоти, нерозчинні у воді, окиснюються значно

важче і повільніше. Під впливом мікроорганізмів у аеробних умовах вони окиснюються до діоксиду вуглецю і води:



Окиснення жирних кислот відбувається через стадії утворення інших кислот, які вступають у цикл Кребса. Органічні кислоти можуть використовуватися мікроорганізмами як джерело енергії і як матеріал для біосинтезу. Виняток становить мурашина кислота, яка бере участь тільки в катаболітичному процесі.

Окиснення насичених вуглеводнів (алканів). Деякі мікроорганізми в аеробних умовах розкладають вуглеводні з різною довжиною вуглецевого ланцюга, від метану до складних вуглеводнів нафти. Група метаноокиснюючих мікроорганізмів *Methanomonas* під дією ферментів трансформує метан у діоксид вуглецю і воду. Вуглеводні з великим числом вуглецевих атомів окиснюються іншими групами бактерій за різними механізмами. Основний шлях можна представити схемою:



Остання стадія полягає в перетворенні кислот у циклі Кребса до простих продуктів, при повному окисненні до діоксиду вуглецю і води. Найбільш енергійно окиснюють алкани бактерії *Pseudomonas*, мікобактерії, актиноміцети. Розкладання вуглеводнів може відбуватися і в анаеробних умовах у присутності речовин, здатних віддавати кисень.

Окиснення ароматичних вуглеводнів і їх похідних. Багато з'єднань ароматичного ряду, наприклад, фенол і його гомологи, є токсичними відносно мікроорганізмів. Але існують специфічні мікроорганізми з груп мікобактерій, бацил, здатні розкладати ці сполуки за певної концентрації їх у навколишньому середовищі. На діяльності цих мікроорганізмів заснований біохімічний метод знефенолювання води. Найбільш повно і швидко окиснення цих сполук відбувається у воді за достатньої кількості кисню. У цих умовах з'єднання ароматичного ряду розкладаються до діоксиду вуглецю і води без утворення проміжних продуктів.

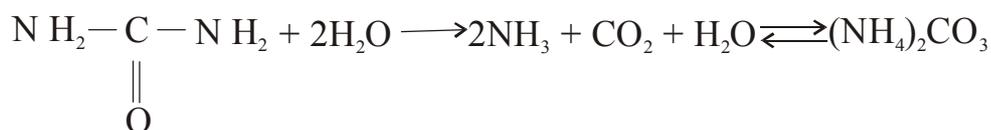
Оскільки всі біохімічні процеси проходять за участю ферментів, то за надходження органічних речовин іншого хімічного складу і будови життєдіяльність мікроорганізмів через токсичну дію може повністю порушуватися або протягом деякого часу відбувається пристосування (адаптація) мікроорганізмів до умов, що змінилися. Наслідком цього є вироблення нових ферментів, під дією яких починає розкладатися новий вид органічного забруднення. Залежно від хімічної природи забруднення, його концентрації, кількості мікроорганізмів, швидкості їх розмноження й інших

Процес розкладання продуктів гідролізу білкових з'єднань мікроорганізмами з утворенням аміаку називається амоніфікацією, а мікроорганізми – амоніфікаторами.

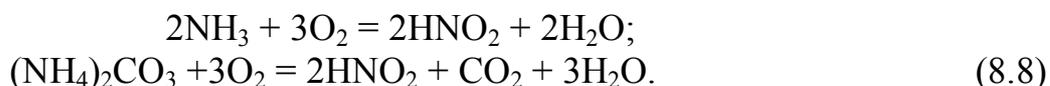
Окиснення білкових з'єднань відбувається до кінця з утворенням аміаку, діоксиду вуглецю, води. Якщо в білках міститься сірка, то в якості проміжних з'єднань утворюються ще меркаптани (Тіоспірти), а при повному розпаді утворюється сірководень. Найбільш поширені аеробні збудники розкладання білків *Bacterium fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*. Крім того, розкладання білкових з'єднань може викликатися актиноміцетами і багатьма грибами. Нуклеопротейди, що містять нуклеїнові кислоти, пов'язані з амінокислотними залишками, розкладаються з утворенням вуглеводів – рибози і дезоксирибози, азотистих органічних підстав і фосфорної кислоти [7-12].

Розкладання карбаміду. Карбамід (сечовина) $NH_2 - CO - NH_2$ являє собою продукт білкового обміну у тварин і людини. Під дією ферменту уреази карбамід гідролізується уробактеріями з утворенням аміаку й діоксиду вуглецю:

Розкладання карбаміду здійснюється в основному аеробними мікроорганізмами. Утворений карбонат амонію піддається гідролізу з утворенням бікарбонату амонію і гідроксиду амонію. Наявність цих з'єднань обумовлює буферні властивості стічної рідини.



Нітрифікація. Аміак, що утворився в результаті розкладання азотовмісних органічних сполук, використовується в якості енергетичного матеріалу нітробактеріями. Енергія, необхідна для життєдіяльності нітробактерій, виходить в результаті ферментативних реакцій окислення аміаку і солей амонію киснем:



Цей процес здійснюється тільки в аеробних умовах. Енергія, що виділяється при цьому, витрачається на синтез органічної речовини клітини, оскільки нітробактерії – автотрофні організми. Окиснення амонійного азоту починається тільки після повного розкладання органічних домішок, які біологічно розкладаються. Найбільш енергійними окиснювачами аміаку є бактерії роду *Nitrosomonas*, що представляють собою рухливі клітини овальної форми з довгим джгутиком. Азотиста кислота в присутності достатньої кількості кисню окиснюється іншою групою мікроорганізмів – нітробактерій до азотної кислоти: $2HNO_2 + O_2 = 2HNO_3$. Утворені кислоти нейтралізуються гідрокарбонатами, що знаходяться у воді водойм. Тому на першій стадії нітрифікації утворюються солі азотної кислоти нітриту, а на другий – солі

азотної кислоти нітрати. Цей процес протікає при енергетичній реакції. Збудниками процесу служать бактерії роду *Nitrobacter*, що представляють собою дрібні палички довжиною близько 1 мкм і діаметром 0,5 мкм, що утворюють зооглею.

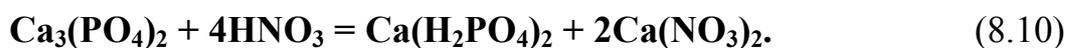
Процеси окиснення аміаку і азотної кислоти називаються нітрифікацією, а бактерії – нітрифікуючими або нітрифікаторами. Для нормального протікання процесу нітрифікації необхідно певне значення рН. Перша стадія має оптимум рН 8,5, а друга – 8,3–9,3. Утворені під час нітрифікації азотиста і азотна кислоти можуть викликати руйнування підводних бетонних споруд.

4 Розкладання сірководню

Сірка входить до складу деяких білків. За гідролітичного розпаду білків вона відновлюється до сірководню, який являє собою токсичну сполуку для багатьох груп мікроорганізмів. Але у водоймах і ґрунті зустрічаються сіркобактерії, окиснюють відновлені сполуки сірки до вільної сірки і сульфатів. Ці бактерії живуть за високих концентрацій сірководню в навколишньому середовищі. Сірководень для них є джерелом енергії для синтезу органічної речовини.

Окиснення сірководню здійснюється в два етапи. Спочатку за достатньої кількості сірководню утворюється вільна сірка, яка відкладається в клітинах сіркобактерій у вигляді включень: $2\text{H}_2\text{S} + \text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{S}$. Потім за зниження концентрації сірководню в навколишньому середовищі відбувається окиснення сірки до сульфатів: $2\text{S} + 3\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} = 2\text{H}_2\text{SO}_4$. До сіркобактерій, окиснюючих сірководень через утворення вільної сірки, належать безбарвні і пурпурні сіркобактерії. Із безбарвних сіркобактерій найчастіше зустрічається *Beggiatoa alba*. Ці бактерії утворюють довгі, плаваючі нитки діаметром від 8 до 50 мкм і викликають обростання. Пурпурові сіркобактерії (*Thiorodaceae*) містять пігмент бактериопурпурин. Вони здатні отримувати енергію шляхом фотосинтезу. Група тіонових бактерій окиснює сірководень безпосередньо до сульфатів. Із них найбільш часто зустрічається невелика рухома паличка *Thiobacillus thioparus*.

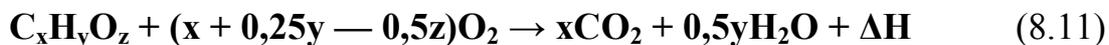
Перетворення сполук фосфору. Фосфор входить до складу таких життєво важливих з'єднань, як нуклеїнові кислоти, ліпоїди, АТФ. Під час розкладання цих сполук звільняється фосфорна кислота, яка утворює з іонами Ca^{2+} і Mg^{2+} важкорозчинні фосфати. Переведення їх в розчинні сполуки (гідро-, дигідрофосфат) називається мобілізацією фосфатів. Вона здійснюється під дією кислот (азотної, сірчаної), що утворюються в результаті життєдіяльності деяких сіркобактерій і нітрифікаторів:



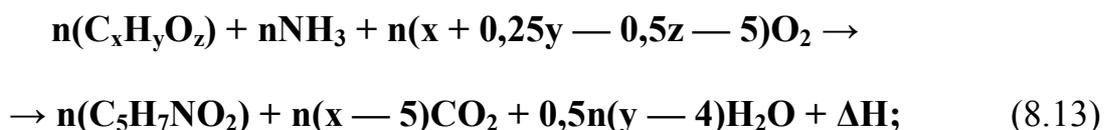
Загальна спрямованість аеробних процесів. Розглянуті шляхи окиснення основних груп органічних сполук є кілька умовними, оскільки за наявності декількох груп органічних речовин, що окиснюються, розкладання

кожної з них буде залежати від хімічної природи і концентрації інших компонентів. Загальну спрямованість процесів аеробного окиснення, що здійснюються бактеріями-гетеротрофами, можна умовно описати такими схемами:

1) окиснення органічних речовин у процесі енергетичного обміну:



2) синтез біомаси клітин мікроорганізмів у процесі конструктивного обміну:



3) окиснення органічних речовин, що входять до складу клітин мікроорганізмів:



Тут умовно прийняті позначення: $C_xH_yO_z$ – безазотиста органічна речовина; $C^xH_yO_zN$ – азотовмісне з'єднання; $C_5H_7NO_2$ – формула, виведена на основі середньостатистичного співвідношення між елементами в синтезованих клітиною речовинах. Кількість кисню, необхідна для окиснення органічних домішок у ферментативних реакціях конструктивного і енергетичного обміну (схеми 8.1 і 8.2), характеризують повне БПК. Утворений аміак окиснюється нітрифікуючими бактеріями до нітритів і нітратів.

Після окиснення органічних домішок стічних вод відбувається розкладання вмісту клітин мікроорганізмів (схема 8.3). Коефіцієнти (x, y, z) і середньостатистичне співвідношення між основними елементами можуть відрізнятися для різних груп мікроорганізмів. Тому ця схема досить умовна, але з її допомогою можна простежити загальний хід процесів перетворення органічних речовин за аеробних способів очищення стічних вод. Перший і третій процеси є екзотермічними, а другий (біосинтез) – ендотермічним.

Контрольні питання

1. Сутність повного біологічного очищення.
2. Механізм аеробного окиснення жирів і клітковини.
3. Механізм окиснення азотовмісних органічних речовин.
4. Механізм окиснення карбаміду.
5. Процес нітрифікації – бактерії та етапи процесу.
6. Етапи розкладання сірковмісних сполук.
7. Перетворення сполук фосфору.

Лекція 9. Біохімічна очистка стічних вод в природних і штучних умовах

1. Грунтові методи очищення стічних вод.
2. Очищення в аеротенках.
3. Біоценоз активного мулу.
4. Біохімічне очищення в біофільтрі. Мікроорганізми біоплівки

1 Грунтові методи очищення стічних вод

Методи ґрунтового очищення стічних вод засновані на здатності самоочищення ґрунту; здійснюється таке очищення на полях зрошення або на полях фільтрації.

Полями зрошення називаються спеціально підготовлені і сплановані земельні ділянки, призначені для очищення стічних вод і для вирощування на них сільськогосподарських культур.

Якщо земельні ділянки призначаються тільки для очищення стічних вод, вони називаються полями фільтрації.

У Росії перші поля зрошення були влаштовані в Одесі (1887 р.), потім у Києві (1894 р.) і, нарешті, в Москві (1898 р.) [9]. Проте в подальшому за збільшення обсягу стічних вод ці поля зрошення були переведені на режим полів фільтрації, а в подальшому для більшої частини стоків замінені спорудами штучного біологічного очищення.

Очищення стічних вод у обох випадках відбувається в результаті сукупності складних фізико-хімічних і біологічних процесів.

Сутність цих методів полягає у фільтрації стічних вод, що містять органічні речовини, через шар ґрунту. Очищення води при цьому проводиться під впливом фізичних, хімічних і біологічних факторів.

У процесі фільтрації стічної рідини протягом 1-2 тижнів на поверхні ґрунту утворюється активний фільтрувальний шар. Він утворюється в результаті затримки завислих і колоїдних речовин, що містяться в стічній рідині, і заселення цього шару величезною кількістю аеробних мікроорганізмів. Товщина активної плівки становить 20–40 см. У цьому шарі відбувається накопичення зважених, колоїдних і розчинених речовин, а також мікроорганізмів і яєць гельмінтів. Завдяки сильно розвиненій поверхні ґрунтових частинок здійснюється адсорбція газів, що містяться в стічній рідині, в тому числі необхідного для життєдіяльності мікроорганізмів кисню.

Очищення води певною мірою може проводитися в шарі ґрунту товщиною до 1,5–2 м. У самому верхньому шарі ґрунту затримуються зважені речовини, яйця гельмінтів, частково бактерії. У більш глибоких шарах відбувається адсорбція колоїдних домішок і бактерій ґрунтовими частинками, що містять величезну кількість мікроорганізмів, які беруть участь у розкладанні органічних речовин і ліквідації бактеріального забруднення. Основну масу населення активної біологічної плівки складають бактерії-мініералізатори, які здійснюють процес біохімічного окиснення органічних речовин.

Мікроорганізми стічних вод складають близько 1 % від загальної кількості ґрунтових мікроорганізмів. Під впливом несприятливих умов і антагоністичного впливу мікроорганізмів ґрунту відбувається майже повне відмирання патогенних форм. Затримання патогенних мікроорганізмів відбувається в результаті поглинання їх частинками ґрунту, а відмирання може викликатися антибіотичними речовинами, які виділяються ґрунтовими мікроорганізмами. Крім того, патогенні мікроорганізми використовуються найпростішими, коловертками й іншими організмами для харчування.

Ефективність затримання бактерій, що надходять зі стічними водами, залежить від здатності їх сорбуватися частинками ґрунту. Кількість адсорбованих бактерій залежить від їх видових особливостей і коливається в значних межах (від 45 % до 95 %). Ступінь адсорбції для кишкової палички становить близько 94 % від загальної кількості, що надійшла зі стоком. Присутність ПАР у стічних водах сприяє зменшенню числа затриманих ґрунтом бактерій. Так, за концентрації аніонного ПАР (сульфонол) 10 мг/л відстань, на яку переноситься водою *Bacteria coli*, збільшується в 2 рази. Ентерококи та кишкові палички за колі-індексу 10^5 і 10^4 відповідно в 1 л води поширюються на відстані від 30 до 200 см. Відмирання мікроорганізмів, що надходять зі стічними водами, може обумовлюватися певною мірою і дією таких факторів, як сонячна радіація, несприятливі умови зовнішнього середовища. Проходження стічної рідини через ґрунтовий фільтрувальний шар супроводжується зниженням загального числа мікроорганізмів на 90–99,8 %.

В активному шарі відбувається інтенсивне розкладання азотовмісних сполук, в ньому збільшується кількість бактерій–нітрифікаторів, яка досягає 1 млн клітин на 1 г ґрунту. Уміст азоту у формі нітратів у очищеній воді може становити 20–25 мг/л. На глибині понад 40 см окислення органічних сполук здійснюється за рахунок відновлення нітратів.

У процесі розкладання органічних речовин беруть активну участь і інші рослинні і тваринні організми біоценозу. Ґрунту ові водорості, особливо зелені та синьо-зелені, є додатковим джерелом кисню. Гриби використовують у якості поживного матеріалу органічні сполуки. Роль найпростіших і коловерток зводиться до знищення бактерій, переробки мулових часток. Черви'яки, личинки комах, що населяють верхній шар ґрунту, розпушують його і сприяють кращій аерації. На полях зрошення число личинок комара *Chironomus pulmosus* може досягати 90 тис. на 1 м^2 , кількість органічної речовини, що поглинається ними досягає приблизно 250 г/м^3 , з яких близько 150 г мінералізується і близько 100 г використовується для побудови тіла личинок.

Ступінь очищення при ґрунтових методах визначається кількістю і якістю стічних вод і властивостями ґрунту. Визначальними показниками ґрунтів є їх проникність і адсорбційна здатність. Найбільш сприятливими в цьому відношенні є супіщані, чорноземні і суглинні ґрунту.

За надмірної кількості стічної рідини спостерігається виникнення анаеробних умов, що призводить до заміни аеробних мікроорганізмів анаеробними і накопичення проміжних продуктів розпаду органічних речовин.

Порушення біохімічного окислення може відбуватися і за високої концентрації неорганічних і біологічно не окислюваних органічних сполук.

Очищена фільтрацією через шар ґрунту стічна вода не містить яєць гельмінтів. Основна їх кількість затримується в 10-сантиметровому шарі ґрунту, окремі можуть проникати на глибину 30 см. Але сам ґрунту, затримуючи значну кількість яєць гельмінтів, може бути джерелом зараження вирощуваних на ньому овочів, а також обслуговуючого персоналу. Яйця гельмінтів на глибині 2 см можуть зберігатися протягом півтора року. Підґрунтове зрошення стічними водами має перевагу перед звичайними фільтраційними методами в санітарному відношенні. При цьому не забруднюється поверхня ґрунту і виростають рослини, відсутні неприємні запахи внаслідок поглинання газів. Очищені стічні води характеризуються такими показниками: рН 6,5–8,5; зважені речовини 14–70 мг/л; ГПК 20–150 мг/л; БСК₅ 10–40 мг/л; амонійний азот 6–70 мг/л; розчинений кисень 4–8 мг/л; сухий залишок 400–700 мг/л. Із наведених даних випливає, що під час біологічного очищення не завжди вдається отримати воду, яка відповідала б необхідним вимогам. Іноді буває необхідним доочищення стічних вод, що пройшли біологічне очищення, фізико-хімічними та хімічними методами.

2 Очищення в аеротенках

Початком під час очищення стічних вод у **аеротенках** є **активний мул**, який представляє собою частинки органічних речовин, населених різними групами мікроорганізмів – аеробів і факультативних анаеробів. Аерація води сприяє створенню оптимальних умов для їх життєдіяльності та інтенсифікації процесів окиснення органічних речовин. Крім того, перемішування повітрям сприяє підтриманню активного мулу в підвищеному стані [2].

Із фізико-хімічної точки зору активний мул являє собою структуровану колоїдну систему, що має високу сорбційну здатність. Активний мул є місцем існування багатьох мікроорганізмів води та ґрунту, що утворюють складний біоценоз. Він виходить за тривалої аерації біологічної плівки біофільтрів або побутових стічних вод. Склад активного мулу визначається природою органічних домішок і тому може змінюватися якісно і кількісно. Так, за окиснення феноловмісних стічних вод у біоценозі активного мулу переважають псевдомонади (*Pseudomonas*) при загальній кількості видів мікроорганізмів 48 і щільності бактеріального населення 550 млн клітин в 1 мл. Під час окиснення стічних вод, що містять аніонні ПАР (алкілсульфонати), розвиваються тільки 10 видів зі значним переважаням мікобактерій за загальної кількості мікроорганізмів 500 тис. в 1 мл.

3 Біоценоз активного мулу

Біоценоз активного мулу за нормальної роботи аеротенка насамперед представлений різними групами бактерій, серед яких є гетеротрофи та літотрофи. Чисельність бактерій у активних мулах становить 10^8 – 10^{12} клітин на 1 мг сухої речовини. В активному мулі зустрічаються все морфологічні групи бактерій: вид *Pseudomonadinae* і роди: *Bacillus*, *Bacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus* та ін. У нормально працюючому мулі міститься невелика кількість нитчастих бактерій (сферотілюс і кладотрікс (рис. 9.1).

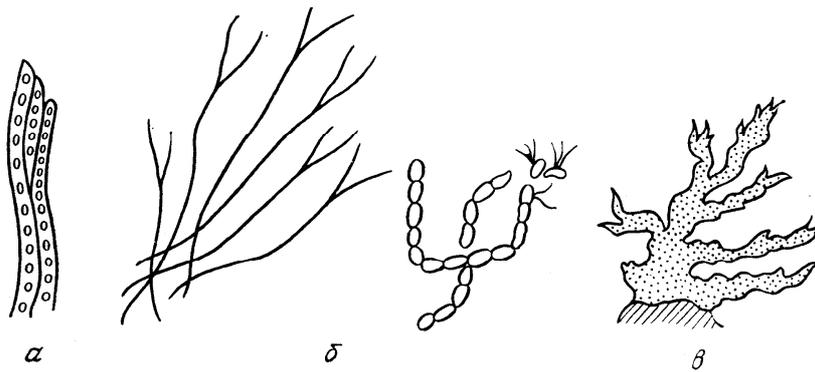


Рисунок 9.1 – Нитчасті та зооглійні бактерії
 а – *Sphaerotilus natans*; б – *Cladotrix dichotoma*; в – *Zooglea ramigera*

Бактерії в процесі очищення води утворюють слизисті скупчення – зооглею, які характерні для добре сформованого активного мулу. У зооглеї переважають кокові та паличкоподібні форми. У її створенні може брати участь бактерія *Zooglea ramigera*, яка утворює розгалуження у вигляді лопатей. Основними представниками біоценозів активного мулу є бактерії, які здійснюють біохімічні процеси розкладання органічних речовин. Серед них представлені всі групи бактерій, що розкладають безазотисті й азотовмісні органічні сполуки і недоокислені неорганічні речовини; протеоліти, гідролізуючі білкові сполуки; амоніфікаторів; бактерії, які розкладають вуглеводи, жири, органічні кислоти; нітрифікатори; сіркобактерії та ін.

Крім бактерій у активному мулі розвиваються гриби й актиноміцети. Водорості зустрічаються рідко і в невеликій кількості. Актиноміцети і близькі до них мікобактерії розкладають вуглеводні, жири, органічні кислоти, вуглеводи. Плісняви беруть участь в розкладанні вуглеводів, спиртів, органічних кислот, деякі засвоюють органічні форми азоту. Вуглеводи і органічні кислоти споживаються дріжджами. Співвідношення між різними групами мікроорганізмів у активних мулах наведено на рис. 9.2.

За умови утрудненої аерації або надмірного надходження в аеротенк органічних забруднень спостерігається зміна біоценозу активного мулу. За тривалості анаеробних умов більше 15 хвилин відбувається значне збільшення кількості факультативних анаеробів і пригнічується життєдіяльність аеробних форм. Подібна зміна груп мікроорганізмів супроводжується утворенням мулу, що не осідає (спухання). При цьому в активному мулі відзначається масовий розвиток нитчастих бактерій і грибів (*Fusarium*). Мікрофауна активного мулу представлена різноманітними групами найпростіших (джгутиковими, саркодові, інфузорії), коловертки, зустрічаються малоштиткові черв'яки (олігохети), рідше – водні кліщі.

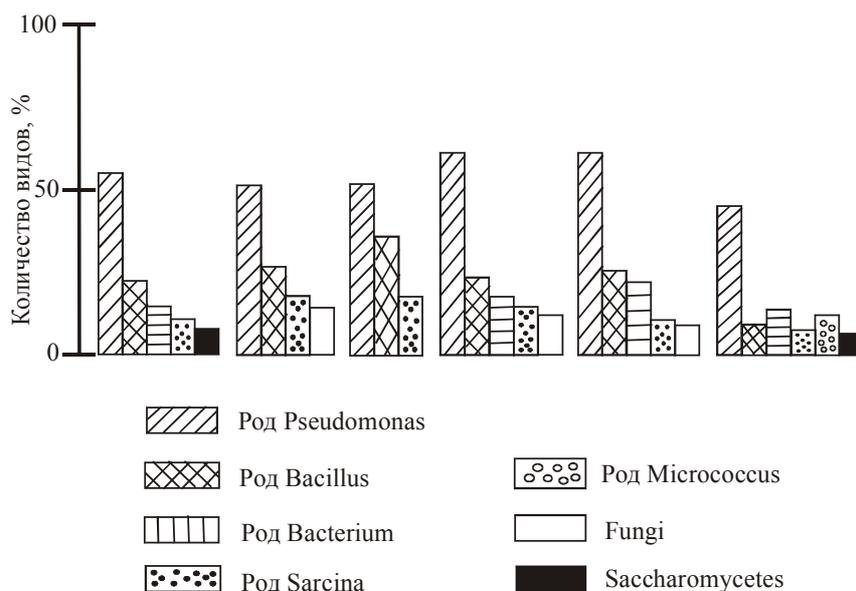


Рисунок 9.2 – Співвідношення між різними групами мікроорганізмів активного мулу

Представники мікрофауни дуже чутливі до концентрації органічних сполук, кількості розчиненого кисню, наявності токсичних сполук. Тому залежно від зміни ступеня забруднення води в процесі очищення або інтенсивності аерації води в активному мулі спостерігається переважання різних груп найпростіших. Так, за сильного забруднення води органічними домішками (на початку процесу очищення, за поганої роботі аеротенків) у активному мулі розвиваються у великій кількості з саркодових дрібні амеби (наприклад, *Amoeba limax* та ін.), безбарвні джгутикові (р. *Bodo*, *Oicomonas* тощо). Інфузорії за несприятливих умов із вегетативних форм перетворюються на цисти, а за нестачі розчиненого кисню прикріплені форми переходять у рухому стадію. Найменш чутливі до негативних впливів із рівновійкових інфузорій *Paramecium caudatum*, а з коловійкових – *Vorticella microstoma*. За гарної роботи аеротенків у активному мулі зустрічається велика кількість видів найпростіших. Особливо характерні черевовійкові інфузорії: *Aspidisca*, *Stylonichia*, *Euplotes*; коловійкові: *Vorticella convallaria*, *Opercularia*. Якщо спостерігається дефіцит поживних речовин (голодуючий іл), відбувається зменшення розмірів інфузорій, і вони починають інцистуватися. В активному мулі, перевантаженому органічними домішками, розвиваються сисні інфузорії (*Suctorina*).

В активному мулі в період завершення окиснення органічних речовин і протікання процесу нітрифікації у великій кількості розвиваються прикріплені інфузорії (наприклад, *Carchesium*), черепашки (*Arcella*) і великі голі амеби. Досить часто зустрічаються коловертки (*Philodina*, *Notommata* та ін.). Водні кліщі і рачки (циклопи) розвиваються в голодуючому мулі. Здатність окремих груп мікрофауни розвиватися за певних умов використовується для проведення гідробіологічного аналізу. При мікроскопіюванні активного мулу або біоплівки надається характеристика видового й кількісного складу мікроорганізмів,

визначається їх життєздатність. У поєднанні з технологічним аналізом це дозволяє зробити висновок про роботу споруди. У таблиці 9.1 наведені дані про ступінь розвитку різних груп найпростіших за різної роботи очисних споруд.

За результатами гідробіологічного аналізу визначається режим роботи споруди, навантаження за органічними речовинами, встановлюється факт скидання виробничих стічних вод, що містять токсичні речовини. Під час характеристики роботи споруди слід урахувувати інтенсивність розвитку індикаторних форм мікроорганізмів, а не окремих видів. Аналіз кривих зростання бактерій та інших мікроорганізмів показує, які мікроорганізми супроводжують певні фази розвитку бактеріальної мікрофлори активного мулу. Так, фаза затримання росту бактерій у активному мулі поєднується з переважанням у ньому амеб і джгутикових. У логарифмічній фазі з найпростіших найбільший розвиток отримують джгутикові, збільшується кількість інфузорій, що вільно плавають.

Таблиця 9.1 – Ступінь розвитку різних груп найпростіших під роботи очисних споруд

Організми	Характеристика роботи біологічного окиснювача			
	Дуже погана	Погана	Задовільна (нітрифікація слабка)	Гарна (нітрифікація сильна)
Амеби	Переважають	Переважають	Одиничні екземпляри	Відсутні
Безбарвні джгутикові	---	---	---	---
Інфузорії	Відсутні	Мало	Переважають рівновійкові	Переважають коло- і черевовійкові
Коловертки	---	---	Переважають	Переважають

Ця фаза відповідає інтенсивному розкладанню органічних домішок, але скупчень бактерій не утворюється. У фазах уповільненого зростання і стаціонарній кількості бактерій майже не змінюється, але йде утворення хлопку активного мулу. Цій фазі відповідає максимум розвитку інфузорій, що вільно плавають. Фаза відмирання бактерій (ендогенна) відповідає закінченню розкладання органічної речовини. Чисельність бактерій зменшується в результаті відмирання через нестачу поживних речовин і споживання їх найпростішими. У цій фазі з найпростіших переважають прикріплені інфузорії, присутні вільноплаваючі інфузорії, що вільно плавають і коловертки. Окиснення клітинного матеріалу відмираючих бактерій йде паралельно з процесом нітрифікації (нітрифікуючих мул). Роль найпростіших зводиться до поїдання бактерій, а також до споживання зважених речовин [2-5].

Процес мінералізації органічних речовин може порушуватися в присутності токсичних сполук, ПАР, важких металів та ін. Біологічна

токсичність домішок виробничих стічних вод оцінюється за зміною дегідрогеназної активності. Дегідрогеназа – окиснювально-відновний фермент, який бере участь у процесі дихання. Вона чутлива до дії токсичних сполук. За ступенем придушення активності дегідрогенази у мікроорганізмів активного мулу або біоплівки можна судити про вплив цих сполук на їх життєдіяльність. Визначення проводиться в присутності індикаторів, що змінюють забарвлення під час переходу з окисненого стану у відновлений під дією дегідрогенази.

Здатність активного мулу до осадження характеризується **муловим індексом**. Ця величина визначається за обсягом мулу, що утворюється після 30-хвилинного відстоювання рідини, що містить 3 мг/л мулу. Співвідношення між обсягом (мл) мулу і масою сухої речовини, що міститься в 1 г мулу, називається муловим індексом. За гарної роботи аеротенка муловий індекс становить 100–120 мл/г. Підвищення мулового індексу до 150–200 мл/г свідчить про порушення роботи аеротенка. Біологічне очищення вважається повним, якщо БПК_{полн} очищеної стічної води становить менше 20 мг/л, і неповним, якщо БПК_{полн} перевищує 20 мг/л. Повне біологічне очищення може проводитися в двох режимах: звичайна аерація (до початку нітрифікації і мінералізації активного мулу) і тривала аерація (повне окислення), за якої мінералізується активний мул і відбувається процес нітрифікації. Поняття «повне біологічне очищення» є умовним, оскільки частина біологічно окислених і неокислених у цих умовах органічних сполук залишається в очищеній воді.

4 Біохімічна очистка в біофільтрі. Мікроорганізми біоплівки

Біофільтри почали застосовувати в кінці XIX ст. (в Англії – в 1893 р). У Росії вони з'явилися в 1908 р. На сьогодні час біофільтри належать до числа найбільш поширених систем біологічного очищення стічних вод. Відмінною особливістю біофільтрів є наявність завантаження, на поверхні якого розвивається біоплівка мікроорганізмів. Біофільтри, на відміну від аеротенків, експлуатуються без повернення мулу з вторинних відстійників – частки мікробної плівки відірвалися, що після відділення їх у вторинному відстійнику не повертаються назад у біофільтр, а відводяться на мулові майданчики.

Більшість конструкцій біофільтрів складають перколяційні біофільтри, виконані у вигляді ємності круглої або прямокутної форми в перерізі. У них вода надходить зверху на завантаження (перколяційні шар), а повітря знизу. Для рівномірного зрошення всієї поверхні завантаження стічна рідина подається на біофільтр через спеціальні водорозподільні пристрою. Вся поверхня біофільтра зрошується з можливо малими перервами. Проходячи через завантажувальний матеріал, забруднена вода очищається мікроорганізмами біоплівки, адсорбуючими та окиснюючими забруднення, при цьому маса активної біоплівки в тілі фільтра збільшується. Відпрацьована біоплівка і та, що омертвіла, змиваються стічною водою і виносяться з тіла біофільтра. Швидкість протікання рідини через біофільтр змінюється залежно від розміру завантажувального матеріалу [2].

Біохімічні процеси розкладання органічних речовин у біофільтрі здійснюються мікроорганізмами **біологічної плівки**, що формується на зернах

завантаження в період його дозрівання. Населення біоплівки представлено в основному тими ж групами мікроорганізмів, що і в біоценозі активного мулу. Але в ній більш широко представлені зелені, синьо-зелені й діатомові водорості, а також гриби, хробаки, личинки комах. Ступінь розвитку різних груп мікроорганізмів у біофільтрі визначається складом стічних вод, умовами обробки води. Видовий склад біоплівки схильний до сезонних коливань. Водорості розвиваються у верхніх шарах, але діатомові можуть зустрічатися і в нижніх шарах завантаження. Найпростіші також розвиваються переважно у верхніх (у незрошуваній зоні) і в нижніх шарах біофільтра. Бактерії населяють всі шари завантаження біофільтра. На відміну від біоценозу активного мулу в біоплівці міститься велика кількість анаеробів, іноді до 29 %. У нижніх шарах завантаження спостерігається розвиток великої кількості черв'яків (зона черв'яків). Зміна біоценозів за висотою завантаження характерна для біофільтрів. У них живуть мікроорганізми, властиві α - і β -мезосапробні зонам. У верхніх шарах живуть мікроорганізми α -мезосапробної зони: тут зустрічається велика кількість нитчастих бактерій, водоростей, грибів, із найпростіших – безбарвні джгутикові. У середніх шарах кількість цих мікроорганізмів зменшується і на зміну їм приходять черво- і коловійкові інфузорії. Нижні шари заселені мікроорганізмами β -мезосапробної зони. Бактеріальне населення представлено авто- та гетеротрофами.

Контрольні питання

1. Що являють собою ґрунтові методи очищення?
2. Чим обумовлений процес очищення в ґрунті?
3. Яку роль у очищенні грають сорбційні характеристики ґрунтів?
4. Охарактеризуйте активний шар.
5. Що впливає на ступінь біохімічного очищення ґрунтовими методами?
6. Споруди, в яких відбувається окиснення органічних речовин у аеробних штучних умовах.
7. Що таке активний мул?
8. Мікроорганізми активного мулу.
9. Роль бактерій і найпростіших у активному мулі.
10. Мікроорганізми біоплівки.
11. Порівняйте активний мул і біоплівку.

Лекція 10 Біологічне окислення органічних речовин в анаеробних умовах

1. Загальний напрям біохімічних процесів.
2. Маслянокисле і метанове бродіння.
3. Розкладання азотовмісних сполук. Процес денітрифікації.
4. Біохімічні процеси, що протікають під час розкладання осаду стічних вод.

1 Загальний напрям біохімічних процесів

Осад, що утворюється в первинних відстійниках, і надлишковий активний мул піддаються спеціальній обробці для запобігання їх загниванню, поліпшення структури, зменшення обсягу та полегшення їх зневоднення. Зазвичай ця обробка полягає в частковому біохімічному розкладанні органічних речовин у анаеробних умовах. Цей прийом обробки осаду називається бродінням. Розглянемо основні напрями біохімічного розкладання органічних речовин у анаеробних умовах. Основу цих процесів складають різні види бродіння.

Процеси бродіння здійснюються в спеціальних апаратах – метатенках. Розпад органічних речовин складається з трьох етапів:

- розчинення й гідроліз органічних сполук;
- ацидогенез;
- метаногенез.

На першому етапі складні органічні речовини перетворюються на масляну, пропіонову й молочну кислоти. На другому етапі ці органічні кислоти перетворюються на оцтову кислоту, водень, вуглекислий газ. На третьому етапі метаноутворювальні бактерії відновлюють діоксид вуглецю в метан із поглинанням водню. За видовим складом біоценоз метатенка значно біднішими аеробних біоценозів.

Нараховують близько 50 видів мікроорганізмів, здатних здійснювати першу стадію – кислотоутворення. Найчисленніші серед них – представники бацил і псевдомонад. Метаноутворювальні бактерії мають різноманітну форму: коки, сарціни і палички. Етапи анаеробного бродіння відбуваються одночасно, а кислотоутворення і метаноутворення протікають паралельно. Оцтовокислі і метаноутворювальні мікроорганізми утворюють симбіоз, який вважався раніше одним мікроорганізмом під назвою *Methanobacillus omelianskii*.

Процес метаноутворення – джерело енергії для цих бактерій, оскільки метанове бродіння являє собою один із видів анаеробного дихання, в ході якого електрони з органічних речовин переносяться на вуглекислий газ, який відновлюється до метану. У результаті життєдіяльності біоценозу метатенка відбувається зниження концентрації органічних речовин і утворення біогазу, що є екологічно чистим паливом.

Бродіння целюлози. Целюлоза стійка до дії хімічних сполук, не піддається зміні в травному тракті людини, накопичується у великій кількості в ґрунті і на дні водойм. Вона становить значну частину осаду, що утворюється в первинних відстійниках. Бродіння целюлози починається із ферментативних реакцій утворення глюкози, яка потім зброджується з утворенням органічних кислот, етилового спирту, діоксиду вуглецю, водню. Розкладання целюлози здійснюється облігатними анаеробами-бактеріями, що належать до роду клостридій (*Clostridium*). Це рухливі палички, що утворюють всередині клітин великі спори. Серед них є мезофільні (оптимальна температура розвитку 30–35 °С) і термофільні (оптимальна температура існування близько 60 °С) форми. Під час бродіння целюлози залежно від умов утворюються й інші сполуки. Нижче наводяться основні продукти, що виходять під час бродіння

целюлози різними видами бактерій. За мезофільного бродіння бактеріями *Clostridium omelianskii* утворюються оцтова, молочна і мурашина кислоти, етиловий спирт, CO₂, H₂; бактеріями *Clostridium dissolvens* – масляна, оцтова і молочна кислоти, етиловий спирт, CO₂, H₂; бактеріями *Clostridium cellobioparum* – оцтова, мурашина і молочна кислоти, етиловий спирт, CO₂, H₂. За термофільного бродіння бактеріями *Clostridium thermocellum* утворюються оцтова, молочна, мурашина кислоти, етиловий спирт, CO₂, H₂. Термофільні бактерії більш повно розкладають целюлозу, і процес бродіння відбувається значно швидше. У таблиці 10.1 наведені дані, що характеризують залежність між температурою, швидкістю і глибиною розкладання целюлози бактеріями.

Для азотистого харчування бактерії, що розкладають целюлозу, використовують органічні сполуки, амонійні солі, а деякі з них здатні засвоювати вільний азот.

Таблиця 10.1 – Зміна швидкості і глибини розпаду целюлози залежно від температури зброджування

Температура бродіння, °С	Тривалість бродіння, діб	Зброжено целюлози, %	Вміст спиртів у середовищі	
			г/л	%
62	5	91,7	6,0	20,0
45	30	69,0	0,36	3,8
35	120	41,0	0,16	0,1

2 Маслянокисле і метанове бродіння

Особливістю цього виду бродіння є утворення масляної, оцтової кислоти, вуглекислого газу і водню. Воно викликається маслянокислими бактеріями (*Clostridium butyricum*). В якості побічних продуктів можуть вийти ацетон, бутиловий спирт. Вони зброджують прості і складні вуглеводи (целюлозу, глюкозу, пектинові речовини), солі органічних кислот. Схему маслянокислого бродіння сумарно можна записати так:



Бродіння відбувається через стадії утворення піровиноградної кислоти з її подальшим перетворенням. Джерелом азоту для маслянокислих бактерій є пептони, амінокислоти й амонійні солі, деякі з бактерій використовують також вільний азот. Вуглеводи для них служать джерелом енергії та вуглецю. Збудники маслянокислого бродіння є облігатними анаеробами. Це великі, рухливі спороутворювальні палички довжиною 3–10 мкм і діаметром 0,5–1,5 мкм. Оптимальна температура для їх розвитку становить 35–37 °С, граничні значення рН 6–8.

Бродіння пектинових речовин. Це бродіння здійснюється бактеріями і грибами, гідроліз пектинових речовин з утворенням менш складних органічних сполук, які потім зброджуються до масляної та оцтової кислот, водню і діоксіда

вуглецю. Збудниками бродіння пектинових речовин є облигатні анаероби (*Clostridium felsineum*, *Clostridium pectunovorum*).

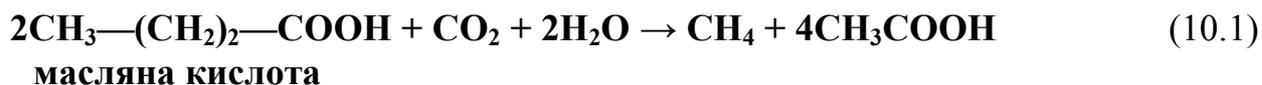
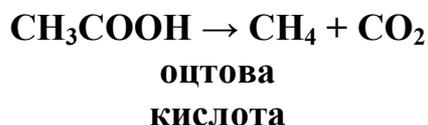
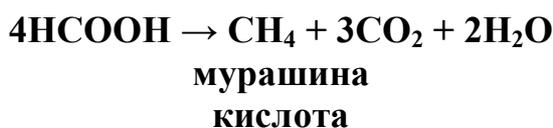
Розкладання жирів в анаеробних умовах також здійснюється через стадію утворення гліцерину та жирних кислот, які потім через низку послідовних перетворень зброджуються з утворенням метану й діоксиду вуглецю. Збудниками анаеробного розкладання жирів і жироподібних сполук є *Clostridium perfringens*, *Cl. sporogenes* та інші мікроорганізми. Гліцерин через стадію утворення піровиноградної кислоти зброджується з утворенням різних продуктів. Вищі жирні кислоти піддаються збродженню, що супроводжується розривом вуглецевого ланцюга й утворенням нижчих кислот.

Описані ферментативні процеси становлять **першу стадію** розкладання органічних сполук у анаеробних умовах, яка називається **кислим або водневим бродінням**. Утворені на першій стадії органічні кислоти, спирти та інші сполуки потім піддаються перетворенням, які закінчуються утворенням метану і діоксиду вуглецю.

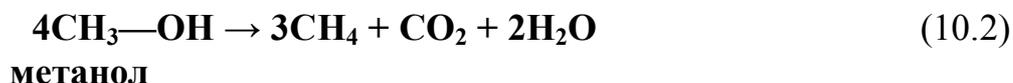
Метанове бродіння – складний процес, що протікає за участю декількох груп мікроорганізмів. Спрямованість біохімічних процесів і розвиток певних груп метанотворювальних мікроорганізмів визначаються хімічним складом субстрату, температурними умовами і навантаженням на спорудження за органічною речовиною. Сутність основних закономірностей метанового бродіння полягає в збродженні органічних кислот, спиртів, що утворюються на першій стадії бродіння, з виділенням метану та діоксиду вуглецю. Одночасно може відбуватися відновлення діоксиду вуглецю воднем до метану. Для метанового бродіння характерна участь води або утворення її в процесі біохімічних реакцій.

Основні біохімічні процеси, що протікають з утворенням метану, можна виразити такими рівняннями:

1) бродіння органічних (жирних) кислот:



2) спиртів:



мікроорганізмами. Під час розкладання білків, що містять сірку, утворюються тіоспірти, тіоефіри, сірководень.

Процес денітрифікації. В анаеробних умовах нітрати в результаті ферментативних перетворень можуть відновлюватися до вільного азоту. Цей процес називається денітрифікацією. Денітрифікуючі бактерії широко поширені у водоймах і ґрунті. Найбільш енергійні збудники процесу денітрифікації: *Bacterium denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens*. Відновлювати нітрати можуть деякі сіркобактерії (*Thiobacillus denitrificans*). Кисень нітратів при цьому йде на утворення сульфатів, а джерелом енергії є процес окиснення елементарної сірки до сульфатів. Схема цього процесу така:



4 Біохімічні процеси, що протікають під час розкладання осаду стічних вод

Осад стічних вод і концентровані виробничі стічні води з БПК вище 5 г/л піддаються біохімічному розкладанню в анаеробних умовах. Воно може відбуватися в спорудах-септиках, що представляють собою відстійник, через який повільно проходить стічна рідина. У двоярусному відстійнику осад відділяється від стічної рідини, його розкладання здійснюється в муловій камері. На очисних спорудах великої продуктивності осад стічних вод виділяється в первинних відстійниках і разом з надлишковим активним мулом піддається зброджуванню в метантенках. Інтенсивність і глибина розкладання осаду насамперед визначаються його складом, який коливається за співвідношенням вмісту основних органічних компонентів (вуглеводів, білків, жироподібних сполук) і неорганічних речовин. Зазвичай у осаді міських стічних вод міститься 70–80 % органічних речовин. Зразковий склад осаду (%): білки – 24, вуглеводи – 23, жироподібні речовини – до 30. Найчастіше при кислому бродінні осаду утворюються оцтова, масляна, пропіонова кислоти. Утворені гази містять діоксид вуглецю, метан, водень, сірководень. Водна фаза має кислу реакцію середовища ($\text{pH} < 5$), не має буферних властивостей, має різкий неприємний запах.

Для нормальної роботи споруд (двоярусних відстійників, метантенків), в яких розкладається осад, необхідно створювати умови для неодмінного проходження другої стадії – лужного або метанового бродіння. Нормальний перебіг процесу метанового бродіння визначається такими факторами, як температура, час зброджування, ступінь перемішування, співвідношення між кількістю свіжого і зброженого осаду, хімічний склад осаду, рН, лужність, концентрація летких органічних кислот, наявність токсичних домішок, біогенних елементів, достатня кількість мікроорганізмів. Термофільне бродіння має низку переваг перед мезофільним. До них належать більш висока швидкість і глибина розпаду органічних сполук, збільшення обсягу газу, що виділяється. За перевантаження метантенка свіжим осадом створюються умови для протікання кислого бродіння. Зброджування осаду порушується також у разі потрапляння до бродильної маси речовин, токсичних для

метанопродукуючих бактерій. У таблиці 10.2 наведені ГДК деяких з'єднань, що негативно впливають на процес зброджування осаду.

Таблиця 10.2 – Гранично допустимі концентрації (мг / л) деяких з'єднань, що впливають на процес бродіння

З'єднання	Концентрація		З'єднання	Концентрація	
	допустима	шкідлива		допустима	шкідлива
Хром (VI)	3	6	Толуол	20	200
Мідь (Cu ²⁺)	20	30	Аміловий		
Свинець (Pb ²⁺)	50	70	спирт	50	100
Cu ²⁺ + Pb ²⁺	7,5-25	25	Ацетон	100	200
			Бензол	50	200

За термофільного бродіння спостерігається повне відмирання патогенних мікроорганізмів і дегельмінтизація. Яйця гельмінтів гинуть за 49 °С протягом 3 год., а за 53 °С через годину. Збудники черевного тифу, дизентерії, паратифу відмирають за термофільного бродіння через кілька годин. Метанові бактерії дуже чутливі до коливань температури. Тому в інтервалі температур 37–42 °С бродіння осаду сповільнюється, що пов'язано з несприятливим впливом температури, низької для розвитку термофіли і високою для мезофілів.

Утворений газ містить зазвичай 62–65 % метану і 30–35 % вуглекислого газу. Сірководень при лужному бродінні, яке нормально протікає, відсутній, оскільки він зв'язується у формі сульфідів. Водню міститься не більше 0,5 %, азоту близько 2,2–2,8 %. Кількість газу і його склад залежать від співвідношення різних груп органічних забруднень у осаді. Так, за збільшення кількості білків або зниження вмісту жирів в осаді вихід газів зменшується.

Метанове бродіння протікає в інтервалі рН 5,6–8,2. Оптимум становить 7,0–7,6. Незважаючи на присутність кислот, рН маси, що бродить, змінюється дуже незначно, це пов'язано з буферними властивостями мулової води, зумовленими присутністю вільної вугільної кислоти і гідрокарбонатів. Підвищення лужності викликається наявністю амонійного азоту. Вільна вугільна кислота, взаємодіючи з основами, частково переходить у гідрокарбонати, що також сприяє підвищенню рН. Контроль за роботою метантенка ведеться за якісним складом і кількістю газу, що утворюється, осаду і за муловою рідиною. У муловій воді і зброженому осаді міститься значна кількість біогенних речовин. За нормального перебігу метанового бродіння мулова вода повинна мати такі показники: рН 6,8–7,5; лужність 40–60 мг-екв/л; жирні кислоти не більше 10–12 мг-екв/л, NH₄⁺ більше 500 мг/л. Метанове бродіння порушується тоді, коли з'являються умови для затримки процесу на стадії кислого бродіння. Цьому сприяють перевантаження споруди свіжим осадом, мала кількість мікроорганізмів, різке коливання температури і рН свіжого осаду нижче оптимуму, нерівномірне надходження осаду. Порушення процесу метанового бродіння проявляється в зниженні виходу газу з одиниці об'єму осаду, що надходить, зміні його якісного складу і зменшенні вмісту

метану, зростанні кількості діоксиду вуглецю і водню і виділенні сірководню. У мулової воді збільшується вміст органічних (жирних) кислот, знижується лужність і рН, спостерігається утворення піни осаду, який збільшується в об'ємі, змінює колір (із темно-сірого стає брудно-жовтим), з'являється неприємний запах. Зброджений осад містить велику кількість сполук азоту, фосфору й інших біогенних елементів, тому після додаткового зневоднення та сушіння він може бути використаний як добриво.

Після висушування вміст бактерій у мулі знижується в 3 800 разів порівняно зі стічною рідиною, а кишкова паличка відсутня повністю, що вказує на безпеку мулу в санітарно-гігієнічному відношенні.

Аеробна стабілізація осаду. В останні роки для обробки надлишкового активного мулу і суміші його з осадом із первинних відстійників використовується аеробна стабілізація. Вона полягає в частковому окисненні органічних домішок, що входять до складу твердої фази, за тривалої аерації в спорудах типу аеротенків. Ефективність обробки осаду залежить від складу і властивостей осаду, тривалості та інтенсивності аерації, температури та інших чинників. Тривалість аерації для стабілізації активного мулу складає 7–10 діб, для осаду з первинних відстійників – 10–15 діб. За аеробної стабілізації відбувається також самоокиснення клітинної речовини бактерій. Зміна властивостей осаду, ступінь розкладання органічних домішок у разі використання цього методу приблизно відповідає ефекту, одержуваному при анаеробному зброджуванні. Іноді процес аеробної стабілізації називають «аеробним зброжуванням». Із цим не можна погодитися, оскільки бродіння є анаеробним процесом і не може відбуватися в аеробних умовах.

Контрольні питання

1. Сутність анаеробних методів очищення стічних вод.
2. Охарактеризувати етап маслянокислого бродіння.
3. Розкладання органічних речовин у анаеробних умовах.
4. Біохімічні процеси, що протікають під час розкладання осаду стічних вод.
5. Процеси денітрифікації.
6. В якому середовищі протікає розкладання органічних речовин у анаеробних умовах?
7. Розкладання азотовмісних органічних речовин у анаеробних умовах.
8. Охарактеризувати етап метанового бродіння.

Лекція 11 Методи біотестування з використанням безхребетних

1. Поняття біоіндикації, її визначення.
2. Різні рівні біоіндикації.
3. Основні вимоги під час біоіндикації.
4. Методика проведення біотестування.

1 Поняття біоіндикації, її визначення

Всі біологічні системи – будь то організми, популяції або біоценози – в ході свого розвитку пристосувалися до комплексу факторів середовища існування. Вони заволоділи певною областю екологічної ніші біосфери, в якій знаходять придатні ділянки для існування, де можуть нормально харчуватися і розмножуватися. Кожен організм має відносно будь-якого чинного на нього фактора генетично детермінований, філогенетично набутий, унікальний фізіологічний діапазон толерантності, в межах якого цей фактор є для нього стерпним. Якщо фактор відрізняється занадто високою або занадто низькою інтенсивністю, але ще не летальна, то організм знаходиться у фізіологічному песимумі. За межами деякого максимального і мінімального значення фактора подальше життя неможливе.

В обмеженій області інтенсивності фактора, особливо сприятливій для зазначеної особини, організм існує в умовах фізіологічного оптимуму. Фізіологічний діапазон толерантності зазвичай неоднаковий для різних стадій розвитку організму і для всіх особин зазначених популяцій.

За широкої амплітуди толерантності організми називаються *евріпотентними*, за вузької – *стенотентними*.

Будучи взаємозалежними, окремі фактори можуть до певної міри взаємозамінюватися. Різні поєднання чинників викликають подібні ефекти, хоча їх повної взаємозамінності не відбувається. Тому в природі існують відмінні за присутністю й розмірами від фізіологічних (потенційних) діапазонів толерантності екологічні діапазони присутності (екологічні потенції), які відображають фактичну реакцію організму на вплив всіх факторів середовища. Фізіологічна толерантність і екологічна потенція організму визначають його індикаторну здатність. У результаті кожна біологічна система (організм, популяція, біоценоз) залежить від часу впливу на неї факторів середовища – природних, змінених людиною або антропогенних. Метод оцінки абіотичних і біотичних факторів середовища існування за допомогою біологічних систем часто називають **біоіндикацією** (лат. *indicare* – вказувати).

Відповідно до цього організми або співтовариства організмів, життєві функції яких так тісно корелюють із певними факторами середовища, що можуть застосовуватися для їх оцінки, називаються **біоіндикаторами**. Це визначення стосується і індикації природних умов місцеперебування в цілому, що здійснюється, наприклад, в сільському і лісовому господарствах за присутності рослин, характерних для певного еко типу.

Проте часто поняття біоіндикації, що включає умови порівняння результатів, застосовується виключно для залежної від часу оцінки антропогенних або тих, що зазнають антропогенного впливу, факторів середовища на основі зміни кількісних характеристик біологічних об'єктів і систем.

Антропогенні впливи, з одного боку, є новими параметрами середовища, з іншого – обумовлюють антропогенну модифікацію вже наявних природних факторів і тим самим змінюють властивостей біологічної системи. Якщо ці нові

параметри значно відхиляються від відповідних вихідних величин, то можлива біоіндикація.

Для кількісної оцінки значущості відхилень необхідні абсолютні або відносні калібрувальні стандарти.

Абсолютні стандарти порівняння [2-6]:

А. Порівняння з показниками абсолютної системи, вільної від впливів.

Б. Експериментальне виключення антропогенних або антропогенно-модифікованих факторів.

В. Порівняння з біологічними системами минулого, що слабо або зовсім не піддаються дії антропогенних факторів.

Г. Побудова градієнта змін одного і того ж об'єкта аж до часу найменшого антропогенного впливу.

Відносні стандарти порівняння:

1. Кореляція з просторово-часовими змінами антропогенних або тих, що зазнають антропогенний вплив, факторів середовища.

2. Установлення еталонних об'єктів, що зазнають незначний або певний антропогенний вплив.

Існують різні форми біоіндикації. Якщо дві однакові реакції викликаються різними антропогенними факторами, то говорять про **неспецифічну біоіндикацію**. Якщо ж ті чи інші зміни, що відбуваються, можна пов'язати тільки з одним фактором, мова йде про **специфічну біоіндикацію**. Якщо біоіндикатор реагує значним відхиленням життєвих проявів від норми, то він є **чутливим біоіндикатором**.

Зазвичай всі види біоіндикації включені в ланцюжок реакцій або процесів, що відбуваються послідовно. Якщо антропогенний фактор діє безпосередньо на біологічний елемент, то мова йде про **пряму біоіндикацію**. Але нерідко біоіндикація стає можливою тільки після зміни стану під впливом інших безпосередньо порушених елементів. У цьому випадку відбувається непряма біоіндикація.

2 Різні рівні біоіндикації

Залежно від часу розвитку біоіндикаційних реакцій можна виділити шість різних типів **чутливості**:

I тип: біоіндикатор дає через певний час, протягом якого він ніяк не відповідав на вплив (відсутність ефективного рівня), одноразову сильну реакцію і тут же втрачає чутливість (вище верхнього ефективного рівня);

II тип: як і в першому випадку, реакція раптова та сильна, проте триває певний час, а потім різко зникає;

III тип: біоіндикатор реагує з моменту появи впливу з однаковою інтенсивністю протягом тривалого часу;

IV тип: після негайної сильної реакції спостерігається її загасання, спочатку швидке, потім більш повільне;

V тип: при появі впливу починається реакція, що стає все більш інтенсивною, поки не досягає максимуму, а потім поступово згасає;

VI тип: реакція V типу неодноразово повторюється, виникає осциляція біоіндикаційних параметрів.

У біології під **стресом** розуміється реакція біологічної системи на екстремальні фактори середовища (стресори), які можуть залежно від сили, інтенсивності, моменту та тривалості впливу більш-менш сильно впливати на систему. У природних умовах організми часто піддаються впливу різних біотичних і абіотичних стресорів.

Толерантність і уникнення створюють стійкість до стресу. Серед викликаних стресором навантажень на біологічні системи слід розрізняти пружні (оборотні) і пластичні (незворотні).

За початковим станом у відповідь на вплив стресора насамперед впливає надлишкова реакція, яка через стабілізований стан веде до стану пристосованості.

Неможливо окремо перерахувати всі антропогенні стресори, які або модифікують наявні фактори середовища і тим самим перетворюють їх на стресові для багатьох організмів, або діють безпосередньо.

Всі антропогенні стресори, як і природні, можна поділити на абіотичні і біотичні порушуючі чинники. Вони також викликають або пружні, або пластичні навантаження.

Небезпека антропогенних стресорів полягає насамперед у тому, що біологічні системи – будь то організми, популяції або біоценози – недостатньо адаптовані до них. Антропогенні стресори створюються з такою швидкістю, що ці системи часто не встигають активізувати відповідні адаптаційні процеси.

Багато антропогенних стресорів середовища тому і стають небезпечними для живого, що вони вкрай відмінні за величиною, інтенсивністю, тривалістю та моментом впливу від зазвичай існуючої норми, до якої адаптовані біологічні системи. У результаті вони часто впливають на діапазон толерантності, що нерідко призводить до перевищення припустимого навантаження на організми й розпаду біологічної системи.

Біоіндикація може здійснюватися на різних рівнях організації живого (макромолекула, клітина, орган, організм, популяція, біоценоз). Зазвичай із підвищенням рівня організації біологічних систем зростає їх складність, тому що одночасно все більше ускладнюються їх взаємозв'язок із факторами місцеперебування. Відповідно до організаційних рівнів біологічних систем можна встановити різні рівні біоіндикації, які, втім, не можна строго розмежувати:

1-й рівень: біохімічні і фізіологічні реакції;

2-й рівень: анатомічні, морфологічні, біоритмічні й поведінкові відхилення;

3-й рівень: флористичні зміни;

4-й рівень: ценотичні зміни;

5-й рівень: біогенетичні зміни;

6-й рівень: зміни ландшафтів.

Для біоіндикації придатні в основному два методи – пасивний і активний моніторинг. У першому випадку у організмів, що вільно живуть, досліджуються видимі або непомітні пошкодження або відхилення від норми, що є ознаками стресового впливу. За активного моніторингу намагаються

виявити ті ж самі дії на тест-організмах, що знаходяться в стандартизованих умовах на досліджуваній території.

3 Основні вимоги біоіндикації

Під час біоіндикації слід враховувати чотири основні вимоги:

1. відносну швидкість проведення;
2. отримання досить точних і відтворених результатів;
3. присутність об'єктів, що застосовуються з метою біоіндикації, за можливістю у великій кількості та з однорідними властивостями;
4. діапазон похибок порівняно з іншими методами тестування не більше 20%.

Санітарний стан водойми оцінюють фізико-хімічними, бактеріологічними й біологічними методами, останнім часом особливого значення набувають токсикологічні методи. Найкращих результатів можна досягти шляхом спільного застосування цих методів обстеження і зіставлення отриманих результатів.

Під *біологічним методом* (біоіндикацією, біотестуванням) розуміють оцінку стану водойми за складом рослинного і тваринного населення і тестом на токсичність. Водойма реагує на забруднення цілим комплексом взаємозв'язків біотичного і абіотичного середовища. Тому під час біологічного дослідження (біотестування) вивчають водойму в цілому – воду, дно, береги, а не тільки організми, які населяють водойми. Перевагою біоіндикації перед іншими методами є можливість показати не тільки одноразовий стан водойми, але також попередні умови, в яких розвинулися біоценози, а також стан водойми в найближчій перспективі.

Під час дослідження водойм на великих просторах попереднє біологічне обстеження передує всім іншим. На підставі результатів цього обстеження складають детальний план подальших робіт. Якщо забруднення різко виражене, можна задовольнитися результатами попереднього біологічного огляду, не вдаючись до докладного вивчення водойми. Санітарно-біологічне дослідження може сигналізувати про наявність у водоймі шкідливих (токсичних) речовин. Перш ніж приступити до обстеження, необхідно мати відомості про морфометрію, режими водойми, витрати води, характер водозабірної площі, розташування, кількість і якості випусків стічних вод, наявність забруднених територій вздовж берегів водойми. У момент огляду водойми відзначають температуру води; її прозорість; наявність або відсутність плівок на поверхні; запах; особливості кольору; наявність водної рослинності – макрофітів або нитчаток, забруднення берегів; замулюваність дна, характер мулу; плівки нафтопродуктів на дні; характер біологічних обростань.

За попередньої біоіндикації проби обростань і мікробентосу переглядають в живому вигляді. У масових формах необхідно визначити кожен вид на підставі списків сапробних індикаторів. На основі зіставлення результатів візуальних спостережень і фізико-хімічних експрес-аналізів дають попередній висновок про ступінь забруднення зазначеного пункту водойми.

Під час оцінки біоценозів, у які входять як планктон, так і бентос, завжди слід враховувати велике значення бентосу. Так, якщо порівняно чиста річка має

коротку, але сильно забруднену ділянку, то планктонні організми вищерозміщеної чистої зони можуть проходити через забруднену ділянку. Для забрудненої ділянки ці організми зовсім не показові. Дійсний ступінь забрудненості, характерну для цієї ділянки, будуть відображати бентосні організми, прикріплені до різних предметів на дні водойми. Чим вище швидкість течії річки, тим менше значення під час оцінки забруднення слід надавати планктону. За повільного плину води у водоймі санітарне значення планктону і бентосу ідентичне. У чистих й помірно забруднених водоймах обростання зазвичай складаються з бахроми зеленого або бурого нальоту діатомових водоростей, у забруднених місцях – з подібних до пластівців білих або сірих обростань нитчастих бактерій, грибів або інфузорій.

Проби рекомендується відбирати нижче випуску джерела забруднення, за можливістю на всьому протязі забрудненості водойми, а також для порівняння в чистому пункті вище випуску. Для повної біологічної характеристики повинні бути враховані всі групи: обростання, бентос, планктон, контактна зона мул – вода, макрофіти та ін. Але практично під час одиничного обстеження можна обмежитися розглядом найбільш типових груп. Наприклад, для малих водостоків це обростання, для річок – планктон, бентос, перифітон, для ставків – зарості макрофітів тощо.

Обростання збирають скребком, переносять у лабораторію в термосі, щоб зберегти пробу для мікроскопіювання в живому вигляді. Згодом її фіксують формальдегідом, доводячи його концентрацію в пробі до 4 % або 2 %, і потім остаточно визначають види. Ураховують сапробність і частоту зустрічальності організмів.

Кількісні (чисельність і біомаса) дослідження організмів водойми проводять у таких випадках: під час порівняння вище і нижче стоку; на одному пункті в різні періоди; для отримання даних, що характеризують продукцію живих організмів у водоймі, яка дозволяє кількісно оцінити процеси самоочищення, а також дати можливість прогнозувати стан водойми.

4 Методика проведення біотестування

У будь-якій водоймі є складні біологічні співтовариства мікроорганізмів. Кожному ступеню забрудненості води органічними речовинами відповідає певна мікрофлора та мікрофауна. Звідси виникає можливість для кожного ступеня забруднення водойми (зони сапробності) встановити показові організми, наявність яких у водоймі свідчить про певну якість води, або за кількістю мікроорганізмів у водоймі встановити ступінь забрудненості води.

Здатність організмів мешкати в умовах різного ступеня сапробності пояснюється потребою в органічному харчуванні й витривалістю до шкідливих речовин, що утворюються в процесі розкладання органічної речовини.

Зони сапробності – це зони різного ступеня розкладання органічної речовини.

Визначення сапробності водойми за методом Пантле і Бунка дозволяє порівняти стан водойми в різних пунктах, наприклад, за подовжнім профілем річки, і представити результати у цифровому і графічному вигляді. Зонам сапробності надається цифрове значення від 1 до 4 за зростанням забруднення.

Визначається також частота появи h організмів у співтоваристві. Обидві величини входять у формулу для обчислення індексу сапробності:

$$Ind S = \Sigma(sh)/(\Sigma h) \quad (11.1)$$

Поряд із дев'ятибальним позначенням частот h вводять поняття «зубожіння» і «мертва» зона, що особливо характерно для промислових стоків.

Для кількісного обліку мікробентосу й обростань 10 мл зразка, що містить приблизно 1/4 проби і 3/4 води, переносять в чашку Петрі діаметром 9 см і розглядають під мікроскопом за 100-кратного збільшення. Більш дрібні об'єкти мікроскопують на предметному склі 24 мм x 24 мм. Переглядають 50 полів зору не менше, ніж на трьох препаратах. Число організмів оцінюють за шкалою частот після перерахування на 100 полів зору відповідно до розміру:

I категорія – організми розміром до 50 мкм;

II категорія – розміром 50–200 мкм;

III категорія – розміром 200–1000 мкм.

Частоту віхилення враховують за дев'ятибальною шестиступінчатою шкалою частот з такими позначеннями: 1 – дуже рідко; 2 – рідко, 3 – нерідко, 5 – часто, 7 – дуже часто, 9 – маса.

Труднощі визначення видів організмів-індикаторів і токсичного впливу промислових стічних вод на водойму обмежують застосування методу сапробних індикаторів. Найчастіше використовується кількісна порівняльна характеристика водойми нижче і вище випуску. При цьому не обов'язково визначати організми за видами, можна їх розподілити на більші систематичні групи: п'явки, молюски, ракоподібні, жуки тощо. У літературі пропонуються різні індекси для оцінки зміни під впливом забруднення якісного й кількісного складу біоценозів вище і нижче стоків.

Індекс Вудівіса. Ця система заснована на аналізі макрзообентосу й обростань головним чином у зоні макрофітів. Індекс визначають за таблицею 11.1. Значення індексу залежить від видового різноманіття та складу організмів. У таблиці вказана послідовність зникнення з біоценозів організмів у міру збільшення забруднення. Індекс змінюється від 10 до чистих водоймах до 1 в забруднених.

Доповненням до характеристики за таблицею Вудівіса, оскільки сильне органічне забруднення супроводжується у багатьох випадках масовим розвитком турбіфіцид, може служити **індекс і-біомаси личинок і комах** (біомаса олігохет, яка зменшується за забруднення).

Таблиця 11.1 – Класифікація біологічних проб за Вудівісом

Присутні організми	Кількість присутніх видів	Загальна кількість присутніх груп				
		0–1	2–5	6–10	11–15	> 16
		Біотичний індекс				
Личинки веснянок	Більше 1 виду	-	7	8	9	10
	Тільки 1 вид	-	6	7	8	9
Личинки одноденок	Більше 1 виду	-	6	7	8	9
	Тільки 1 вид	-	5	6	7	8
Личинки струмівника	Більше 1 виду	-	5	6	7	8
	Тільки 1 вид	4	4	5	6	7
Таммарус	Всі	3	4	5	6	7
Азелеос	вищеназвані	2	3	4	5	6
Тублоріциди і/або (червоні) личинки піранопід	види відсутні	1	2	3	4	-

Характерними видами в забруднених водоймах зазвичай є *Tubitextubitex* і *Limnodrilus* sp. У чистих водах число цих форм 0,1–2, в середньозабруднених – 1–10 і в дуже сильно забруднених – більше 50 тис. олігохет на 1 м². Цей індекс схильний до сильних сезонних коливань через періодичний виліт комах.

Індекс видового різноманіття Маргалефа. У забруднених водоймах різноманітність видів зазвичай зменшується. Оскільки кількість видів пропорційна логарифму вивченої площі, а загальна кількість особин пропорційна площі, в якості запобігання різноманітності запропонована формула:

$$d = (S - 1) / I_n N, \quad (11.2)$$

де S – кількість видів;

$I_n N$ – натуральний логарифм кількості особин;

d – приймає максимальне значення, якщо все особини належать до різних видів ($S = N$), і дорівнює нулю, коли всі особи належать до одного виду ($S = 1$). У міру забруднення d буде зменшуватися.

Тести токсичності найчастіше проводять на дафнах і акваріумних рибках.

Тест токсичності на рибках. Використовується акваріумна рибка групи *Lebistes reticulatus*. Для розведення та контролю застосовують відстояну водопровідну воду. Досліди проводять протягом 48 год на розсіяному світлі, іноді допустиме продування води повітрям. Глибина посудини не більше 20 см. У дослідну посудину поміщають 4 рибки на 1 л води і спостерігають за їх поведінкою і станом. Летальну дозу LD_{50} визначають через 24 і 48 годин під час

статистичної обробки результатів дослідів. Нешкідливою вважається така концентрація, за якої поведінка рибок не відрізняється від контрольних.

Тест токсичності на інфузоріях. Інфузорії, вельми поширені в водоймі, складають 50–70 % гетеротрофного мікропланктону. Спостереження показали, що інфузорії в силу своїх фізіологічних особливостей проявляють більшу чутливість до зміни зовнішнього середовища.

Короткий цикл їх розвитку дозволяє простежити дію окремих токсикантів на декількох поколіннях за короткий термін. Інфузорії придатні для біотестування широкого класу речовин (важкі метали, органічні сполуки), стічних вод різних виробництв і забруднених природних вод. Для біотестування використовують як прісноводні, так і морські організми.

Критерієм токсичності є зміна приросту чисельності клітин (темпу поділу) інфузорій, пригнічення якого свідчить про порушення процесу розмноження.

Метод біотестування на інфузоріях використовують для:

- контролю токсичності сталих скидів стічних вод (плановий контроль);
- контролю залпових скидів стічних вод;
- оцінки токсичності окремих компонентів стічних вод;
- контролю процесу і глибини очищення стічних вод;
- контролю оцінки якості природних вод.

Виділяють інфузорій із природних морських (або прісних) вод методом концентрування відібраної проби об'ємом 5 л до 40 мл шляхом фільтрації через мембранний фільтр із розміром пор 3–5 мкм. Осад із фільтра обережно змивають в чашку Петрі і додають корм – сухі хлібопекарські дріжджі (1 мм³). Через 1 і більше доби відбувається масовий розвиток інфузорій як у видовому, так і в кількісному відношенні.

Види інфузорій, що цікавлять, переносять за допомогою капілярної піпетки в чашки Петрі для подальшого культивування.

У лабораторних умовах інфузорії добре культивуються за кімнатної температури (20±2 °С), природному освітленні (слід уникати потрапляння прямих сонячних променів). Можна використовувати лампи денного світла, встановлюючи їх зверху на відстані 60 см від чашок.

Культуральне середовище солоністю 18 ‰ (18 г/л) має такий склад: (у г на 1 л дистильованої води): NaCl – 14,18; MgSO₄·7H₂O – 3,55; MgCl₂·6H₂O – 2,83; CaCl₂·6H₂O – 0,74; KCl – 0,33; NaHCO₃ – 0,13; KI – 0,003; NaNO₃ – 0,005; NaBr – 0,05; Na₂HPO₄ – 0,03; SrCl₂ – 0,01.

Середовище стерилізують дробовим кип'ятінням на водяній бані. Корм – висушені і подрібнені сухі хлібопекарські дріжджі – вносять у чашки Петрі по 1-2 шматочки розміром близько 1 мм – 2 мм.

Для біотестування використовують прісноводні інфузорії: клас *Ciliata*, підклас *Holotricha*, ряд *Hymenostomata*, *Tetrachymena pyriformis*.

Інфузорія тетрахімени має подовжену грушоподібну форму, розмір 20 мкм x 50 мкм, вагу 1,5·10⁻⁹ г. Клітина має рівномірний війковий покрив,

розмножується поділом кожні 2,5–6 год. У лабораторних умовах добре культивується за кімнатної температури 20 ± 2 °С.

Культуральне середовище ВСД (вуглеводно-сольова дріжджова): на 100 мл дистильованої води глюкози – 1,5 г, морської солі – 0,1 г, дріжджового екстракту – 0,1.

Для інтенсивного виведення культури (отримання культури з високою щільністю) використовується пептонне середовище: на 100 мл дистильованої води глюкози – 0,5 г, пептона бактеріологічного – 2 г, дріжджового екстракту – 0,1, морської солі – 0,1 м

Середовища стерилізують у автоклаві за 0,5 атм протягом 30 хв або дробовим кип'ятінням на водяній бані протягом 3 діб по 30 хв.

Морські інфузорії. Найбільш чутливим показником, яким легко визначається токсичність є порушення темпу поділу клітин, який виражається в зниженні приросту чисельності клітин у відсотках від контролю. Приріст чисельності клітин дорівнює

$$\Delta N = N_t - N_o, \quad (11.3)$$

де N_t – чисельність клітин у кінці проби (або на попередню добу підрахунку);

N_o – чисельність клітин на початку досліду (або на попередню добу підрахунку).

Зниження приросту чисельності клітин

$$EC = 100\% \Delta N \text{ (у відсотках від контролю).}$$

Прісноводні інфузорії. Критерієм токсичності є показник розмноження, за який приймається приріст чисельності, кратний кількості клітин в 1 мл проби (А):

$$A = \frac{N_k}{N_H} \quad (11.4)$$

де N_H – початкова кількість клітин;

N_k – кількість клітин на кожну наступну добу.

Токсичною вважається концентрація (розведення) стічної води, що викликає достовірне відхилення показника токсичності досліду порівняно з контролем.

Метод біотестування з використанням дафній. Дафнії (гіллясовусі рачки) найбільш широко застосовуються у водній токсикології. Обумовлено це тим, що дафнії, поширені в природі, легко культивуються, мають високу чутливість до токсикантів різної природи. У ряді країн вони є стандартним тест-об'єктом під час оцінки токсичності води. В Україні тест із дафніями

обов'язковий при встановленні ГДК окремих речовин у воді рибогосподарських водойм.

Оцінку токсичного впливу на рачків проводять за такими біологічними показниками:

- виживання;
- плодючість;
- кількість потомства.

Метод біотестування з використанням дафній за результатами апробації біотестів, проведеної тимчасовою науково-технічною комісією, рекомендований у якості основного для контролю токсичності стічних вод і перспективного для оцінки рівня токсичного забруднення природних вод.

Цей метод покладено в основу «Методики визначення гострої летальної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis Jiljeborg*», що є керівним нормативним документом, уведеним у дію 01.08.1997 р.

Методика проведення біотестування. Перед тестуванням проби фільтрують через планктонний фільтр, щоб видалити зважені частинки, що забивають фільтрувальний апарат. Визначають гостру і хронічну токсичність для дафній.

Гостра проба: тривалість 90–120 год, дозволяє визначити наявність або відсутність гострого токсичного впливу на дафнії, контрольовану воду або випробувану речовину. У гострій пробі досліджують 5–7 розбавлень дослідної води або розчинів із різними концентраціями окремої речовини. Розчини готують на воді, використаній для культивування рачків. Розведення стічних вод проводять за коефіцієнтом 2–10 залежно від токсичності води. Токсичність певними хімічними сполуками досліджується, починаючи з 10–100 мг/л. Дослід проводять у потрійній повторності, в кожену склянку наливають по 200 мл води, яку тестують або розчину речовини і поміщають по 10 дафній. Кожна серія дослідів супроводжується контрольним випробуванням.

Основним показником є **виживання рачків**. Спостереження за виживанням рачків проводять безперервно протягом 2 годин, потім щогодини до кінця першого дня спостережень, а в наступну добу 2–3 рази в день. Час загибелі рачків відзначають за настанням нерухомості (хемобілізації): дафнії лежать на дні чашки, плавальні рухи відсутні і не поновлюються при легкому дотику струменем води або погойдуванні склянки. Під час обробки результатів проводять порівняння виживання дафній у дослідній і контрольній посудинах.

Хронічний дослід: глибоке, більш ретельне дослідження токсичних властивостей природних або окремих речовин стічної води. Основними показниками є: виживання, плодючість, якість потомства і зростання в ряду колоній. Тестують стічну або природну воду без розведення і з розведенням у 2, 4, 6 разів. Хронічний дослід проводять в тих же умовах, які рекомендуються для *гострого*. Обсяг досліджуваної води (розчину речовини) $V = 500$ мл, зміна розчинів 2-3 рази на тиждень. Змінк біологічних показників дафній в посудинах з токсикантами порівнюють з контрольними посудинами.

Оцінку результатів проводять за такими показниками: плодючості (фактичної і потенційної в перерахунку на одну дафнію за 30 діб досліду у

відсотках відносно контролю). Для надійності будують графіки виживання, розмірів рачків (на осі абсцис відкладають час покоління, а на осі ординат – величину показника в контрольних і дослідних варіантах).

Під час обробки результатів хронічного експерименту порівнюють показники піддослідних і контрольних дафній. На підставі біотестування з використанням дафній роблять висновки про ступінь токсичності тестованих проб води, що враховують час прояви токсичного ефекту, і розраховують розведення, за якого хронічна токсична дія тестованих проб не проявляється.

Контрольні питання

1. Поняття біоіндикації, її визначення.
2. Різні рівні біоіндикації.
3. Основні вимоги біоіндикації.
4. Методика проведення біотестування. Етапи.
5. Індекси видового різноманіття.
6. Біотестування інфузорій.
7. Метод біотестування з використанням дафній.

Лекція 12 Поширення мікроорганізмів у природі. Вплив факторів зовнішнього середовища

1. Фізичні фактори.
2. Хімічні фактори.
3. Біологічні фактори.

1 Фізичні фактори

Мікроорганізми з'являються скрізь, де є умови, що сприяють їх розвитку. Існування мікроорганізмів визначається зовнішніми умовами, які називаються **екологічними факторами**. Розрізняють фізичні, хімічні та біологічні фактори зовнішнього середовища. До фізичних належать такі.

1. **Вологість**. Нестача вологи негативно позначається на життєдіяльності мікроорганізмів, оскільки життєві процеси протікають у водних розчинах. У процесі еволюції визначилися групи мікроорганізмів, більш-менш стійкі до висушування. Найменш стійкі молоді клітини, спори можуть зберігати життєздатність тривалий час за умови нестачі вологи.

Швидкість протікання біохімічних процесів у ґрунті різко знижується за зниження вологості.

Процеси амонізації і нітрифікації найбільш інтенсивно протікають у ґрунті за вологості 60 %.

2. **Температура**. Мікроорганізми нездатні до терморегуляції, тому температура клітини відповідає температурі зовнішнього середовища. Нормальний розвиток мікроорганізмів можливі лише в певному інтервалі температур.

Відносно температури мікроорганізми поділяються на три групи:

а) **психрофільні** (холодолюбні) добре розвиваються за температури, близькій до нуля (мінімум від -5 до $+5$ °С, оптимум $15-18$ °С, максимум $19-22$ °С), – синьо-зелені водорості, актиноміцети;

б) **мезофільні**, що розвиваються за середніх температур (від 10 до 45 °С, оптимум $25-35$ °С) – це мікроорганізми води, ґрунту, а також ті, що мешкають у теплокровних тваринах;

в) **термофільні бактерії** розвиваються за підвищеної температури (мінімум близько 45 °С, оптимум $55-70$ °С, максимум 80 °С).

У природних умовах окремі види мікроорганізмів можуть зустрічатися за температури $-7,5$ °С в соляних озерах і $+99$ °С в термальних джерелах.

Швидкість біохімічних процесів перебуває в прямій залежності від температури. За збільшення температури на 10 °С швидкість біохімічних процесів збільшується в 2-3 рази. Але на відміну від хімічних процесів біологічні вимагають дуже повільної зміни температури для того, щоб живі організми могли адаптуватися.

Різкі зміни температури можуть викликати загибель корисних мікроорганізмів.

За дуже низьких температур багато мікроорганізмів переходить у стадію **анабіозу** (прихованої життєздатності), тобто потенційно можливого повернення до активного життя.

Мікроби витримують температуру -190 °С, але перемижне заморожування і відтавання діють на них згубно, що пояснюється перетворенням рідкої фази на лід і відходом води з клітини, що призводить до зневоднення організму.

Значно гірше мікроорганізми переносять підвищення температури. Відмирання багатьох вегетативних форм бактерій за підвищення температури до $+60$ °С відбувається протягом 30 хвилин, за $+70$ °С – через 10–15 хвилин, а за 100 °С вони гинуть протягом декількох секунд. Спори мають більшу стійкість: витримують кип'ятіння протягом години, але гинуть за температури 120 °С і тиску $1,5$ атм протягом 20–40 хвилин.

Загибель мікроорганізмів за високої температури – результат теплової активності РНК і пошкодження цитоплазматичної мембрани.

Вплив високих температур на життєдіяльність бактерій використовується для боротьби з ними, наприклад, пастеризація і стерилізація.

Пастеризація – це нагрівання протягом 30 хвилин за температури 70 °С.

Стерилізація – нагрівання за 120 °С протягом 30 хвилин.

3. **Дія випромінювань.** Вплив випромінювань на мікроорганізми залежить від довжини хвилі.

Важливе екологічне значення має світло для фотосинтезуючих мікроорганізмів, які не можуть розвиватися за його відсутності (водорості, пурпурні й зелені бактерії).

Ультрафіолетове випромінювання з довжиною хвилі від 200 до 300 нм має найбільш сильну бактерицидну дію. На прямому сонячному світлі відмирання мікробів відбувається в тонкому шарі води через 20–30 хвилин.

Іонізуюче випромінювання залежно від його інтенсивності надає різну дію: малі дози опромінення сприяють деякій стимуляції життєдіяльності мікроорганізмів. У присутності кисню ефект опромінення посилюється, що призводить до загибелі великої кількості мікроорганізмів. Це можна пояснити утворенням вільних радикалів, що мають високу реакційну здатність. Ініційовані ними реакції ведуть до порушення біохімічних процесів обміну речовин.

4. **Дія електричного струму.** У разі пропущення слабкого постійного струму відбувається електрофоретичне переміщення бактерій до певного полюса внаслідок наявності в бактеріальних клітин рівномірно розподіленого по поверхні заряду (переважно негативного в нейтральних середовищах). За зміни рН величина заряду змінюється, а в кислих середовищах після переходу через ізоелектричну точку бактеріальні клітини набувають позитивний заряд і спостерігається коагуляція бактеріальних клітин.

5. **Тиск.** Мікроорганізми здатні витримувати тиск до $3 \cdot 10^2$ МПа і більше. Віруси й бактеріофаги відмирають за тиску порядку $6,5 \cdot 10^2$ МПа, неспорутворювальні бактерії – за тиску $(4-5) \cdot 10^2$ МПа. Спори витримують тиск до $2 \cdot 10^2$ МПа.

2 Хімічні факторів

До них належать наступні фактори:

1. **Концентрація розчинених речовин.** Одна і та ж речовина може по-різному впливати на життєдіяльність мікроорганізмів. У малих концентраціях вона може бути стимулятором розвитку мікроорганізмів, а за підвищення концентрації затримувати їх зростання і навіть викликати відмирання. Наприклад, 2 %-й розчин NaCl активізує життєдіяльність мікроорганізмів, а підвищення його концентрації до 5–10 % викликає їх відмирання. У той же час існують бактерії, які пристосовані до життя у водах з концентрацією NaCl до 25 %.

Завдяки тому, що клітини мікроорганізмів мають механізм регуляції сольового обміну, хімічний склад самих клітин залишається постійним у різних середовищах.

2. **Вплив рН.** рН середовище визначає не тільки умови існування, але і спрямованість біохімічних процесів.

Для кожного виду існують оптимальні величини рН: для більшості бактерій оптимум близько 7, але деякі мікроби здатні переносити відхилення від оптимуму: наприклад, оптимум рН для кишкової палички 4,4–7,8; для нітритних бактерій – 4,8–8,8; нітратних бактерій – 6,5–9,3; сірчаних бактерій – 1,0–4,0.

Мікроорганізми мають здатність до деякого регулювання рН. Якщо концентрація іонів H^+ нижче оптимальної, то вони виділяють речовини, що мають лужні властивості, і навпаки.

Вплив рН на мікроорганізми обумовлено взаємодією іонів водню з ферментами, що знаходяться в цитоплазматичній мембрані і клітинній стінки, в результаті чого порушується стійкість колоїдного стану білків цитоплазми.

3. **Окиснювально-відновний потенціал.** На розвиток мікроорганізмів істотно впливає напрям окисно-відновних процесів, що протікають у розчині. Одні з них проявляють найбільшу активність у середовищі, що характеризується процесом окиснення (аероби), інші – при переважанні процесів відновлення (анаероби).

Окиснювально-відновний потенціал E_h неочищених стічних вод зазвичай знаходиться в межах від 0 до 400 мВ. Чисті води прісних водойм, що містять достатню кількість розчиненого кисню, мають $E_h = 300\text{--}350$ мВ. При позитивних значеннях E_h розвиваються аеробні мікроорганізми. Відновлювальні умови стічних вод сприяють розвитку анаеробних мікроорганізмів.

За наявності певних груп мікроорганізмів у воді можна зробити висновок про характер процесів, що протікають. І, навпаки, знаючи окиснювально-відновні умови, можна передбачити присутність у воді певних груп мікроорганізмів.

4. **Вплив отруйних хімічних сполук.** Мікроорганізми дуже чутливі до неорганічних і органічних хімічних сполук.

Солі важких металів (ртуть, мідь, свинець, срібло та ін.) мають сильну бактерицидну дію. Для відмирання мікроорганізмів досить десятих часток міліграма в 1 л води.

Бактерицидна дія хлору, хлорного вапна, озону, перманганату калію й інших окиснювачів ґрунтується на процесах окиснення сполук, що входять до складу цитоплазми клітини. Сильну токсичну дію має також йод, миш'яковисті і ціаністі сполуки.

Бактерицидну дію мають такі органічні сполуки, як феноли, нижчі спирти, ефіри, формальдегід. Характер їх дії полягає в адсорбції на колоїдних частинках цитоплазми, в результаті чого порушується нормальний перебіг обмінних процесів.

Токсичність хімічних речовин залежить від фізико-хімічних властивостей середовища. Дуже малі дози солей Mn, Co, Cu та ін. (мікроелементи) можуть стимулювати життєдіяльність мікроорганізмів. Підвищена концентрація цих сполук викликає гальмування й відмирання мікроорганізмів.

Пестициди, ПАР та інші органічні сполуки, що містяться в стічних водах підприємств органічного синтезу, також токсичні для мікроорганізмів.

3. **Біологічні фактори.** Різні групи організмів, об'єднані середовищем існування, взаємодіють між собою певним чином, утворюючи природні співтовариства організмів – **біоценози**.

У біохімічному відношенні водойму являє собою єдину екологічну систему зі складними типами взаємин між різними групами водних організмів (гідробіонтів). Взаємодія між різними групами мікроорганізмів і іншими живими організмами можна охарактеризувати такими типами:

- 1) симбіоз;
- 2) метабіоз;
- 3) антагонізм;
- 4) паразитизм.

Симбіотичні відносини проявляються, якщо одні мікроорганізми сприяють життєдіяльності інших. Так, деякі водорості знаходяться в симбіотичних відносинах із найпростішими.

Метабіотичні взаємини полягають в тому, що речовини, що виділяються мікроорганізмами в процесі обміну речовин, використовуються іншими мікроорганізмами. Прикладом таких взаємин є діяльність бактерій-минералізаторів. Органічні кислоти, що виділяються під час розкладання целюлози бактеріями, служать поживою для азотобактерій. У свою чергу, видалення продуктів обміну речовин із навколишнього середовища сприяє життєдіяльності целюлозоруйнуючі бактерій. У таких взаєминах перебувають між собою бактерії-амоніфікатори, нітрато- і нітробактерії.

Антагоністичні взаємини між мікроорганізмами можуть проявлятися в тих випадках, коли продукти обміну речовин одних мікроорганізмів є токсичними для інших. Ці метаболіти називаються **антибіотиками**. Прикладом антибіотичної дії служить придушення життєдіяльності гнильних бактерій речовинами, які виділяються пліснявими грибами.

Особливою формою антагоністичних відносин є використання одних мікроорганізмів іншими в якості їжі (**хижацтво**). Так, деякі види інфузорій харчуються бактеріями й іншими найпростішими, наприклад, джгутиковими.

Паразитизм полягає в тому, що мікроорганізми, здатні до харчування органічною речовиною, проникають у організм господаря і розвиваються в ньому, викликаючи порушення обміну речовин. До паразитичних форм належать бактеріофаги, хвороботворні бактерії, віруси, деякі найпростіші.

В останні роки для інтенсифікації процесів самоочищення водою застосовують біологічний метод, заснований на використанні мікроорганізмів роду *Bdellovibrio*, що викликають відмирання багатьох видів бактерій.

Контрольні питання

1. Вплив фізичних факторів на мікроорганізми.
2. Вплив хімічних факторів на життєдіяльність мікроорганізмів.
3. Адаптація мікроорганізмів. Взаємодія між різними групами мікроорганізмів.
4. Дайте поняття симбіозу, антагонізму, паразитизму мікроорганізмів.
5. Порівняйте біологічні та хімічні фактори.

Лекція 13 Роль мікроорганізмів у кругообігу речовин в природі

1. Участь мікроорганізмів у біологічному кругообігу вуглецю в природі.
2. Участь мікроорганізмів у кругообігу азоту в природі.
3. Участь мікроорганізмів у біологічному кругообігу фосфору в природі.

1 Участь мікроорганізмів у біологічному кругообігу вуглецю в природі

Вуглецеві ресурси на Землі представлені такими формами: вуглець в органічних сполуках (викопані рештки, ґрунтовий гумус, жива й відмерла біомаса) і неорганічних речовинах (карбонати, вуглекислий газ), які присутні у всіх частинах (літо-, гідро- і атмосфера) біосфери.

До особливостей циклу вуглецю можна віднести провідну пов'язану роль живих організмів у його реакціях, в першу чергу фотосинтезувальних організмів (рослин і мікроорганізмів), що утворюють органічну речовину (продукція), і мікроорганізмів, що розкладають його і повертають CO_2 в кругообіг вуглецю (деструкція).

Процеси мінералізації органічної речовини відбуваються як в аеробних, так і в анаеробних (метаногенеза) умовах. Кругообіг вуглецю починається з фіксації CO_2 зеленими рослинами й автотрофними мікроорганізмами (рис. 13.1) [13].

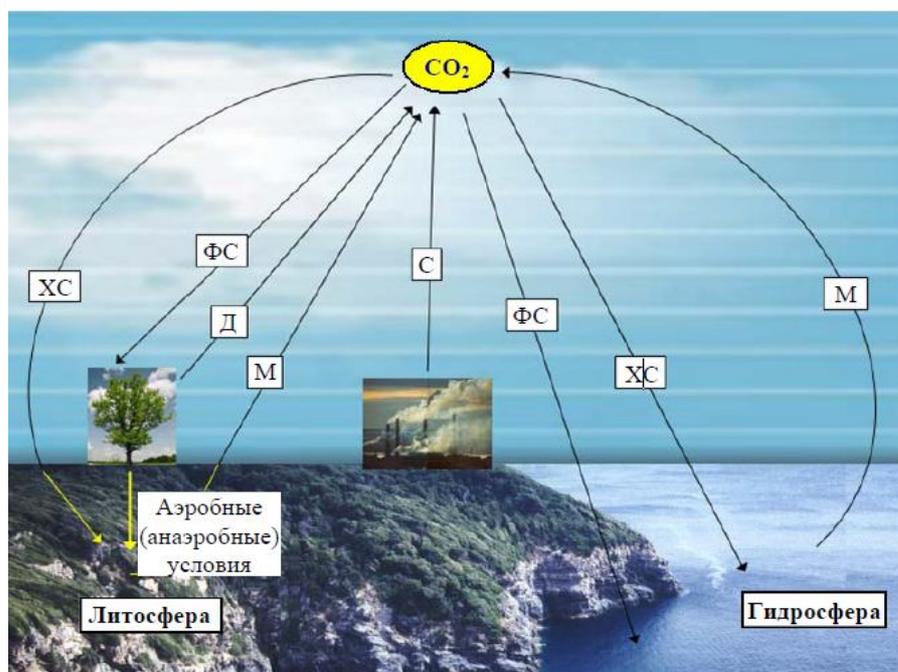


Рисунок 13.1 – Схема кругообігу вуглецю

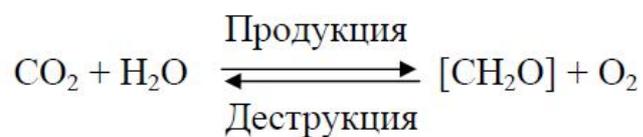
ФС – фотосинтез; ХС – хемосинтез; Д – дихання; М – мінералізація; С – спалювання.

Утворені в процесі фото- і хемосинтезу вуглеводи або інші вуглецевмісні органічні сполуки частково використовуються цими ж організмами для отримання енергії, при цьому CO_2 (продукт реакцій окиснення) виділяється в середовище. Частина фіксованого рослинами вуглецю споживається людиною і тваринами, які виділяють його у формі CO_2 в процесі дихання. Вуглець, що утворюється в результаті розкладання відмерлих рослин і тварин, окиснюється до CO_2 і теж повертається в атмосферу.

Провідна роль у поверненні вуглецю в атмосферу належить мікроорганізмам. У процесі дихання та бродіння вони розкладають найрізноманітніші органічні речовини. Більш доступними є вуглецевмісні з'єднання, розчинні у воді (вуглеводи, спирти та ін.). Але в природних умовах – в ґрунті і воді – в набагато більшій кількості зустрічаються важкорозчинні сполуки вуглецю, такі як крохмаль, пектинові речовини, целюлоза, лігнін. У них зосереджена основна маса вуглецю. Їх розкладання починається з гідролізу, в результаті чого утворюються більш прості сполуки типу вуглеводів.

Подальше перетворення цих з'єднань здійснюється в реакціях дихання або бродіння.

В аеробних умовах очевидний зв'язок між процесами утворення органічного вуглецю, виділення O_2 і споживання CO_2 , що впливає з рівняння:



Необхідно звернути увагу і на те, що приблизно 1 % мінералізованого вуглецю надходить у біосферу у вигляді метану біогенного походження. Ця кількість постійно зростає, що позначається і на збільшенні в атмосфері вмісту так званих парникових газів.

Приріст метану щорічно в 3 рази перевищує приріст у атмосфері CO_2 , а його парниковий ефект у 23 рази вище такої ж кількості CO_2 . Наведені дані про освіту метану слід розглядати як мінімальні, оскільки основна частина (до 50 %) його окиснюється на кордоні аеробно-анаеробної зони метанотрофних мікроорганізмами.

2 Участь мікроорганізмів у кругообігу азоту в природі

Азот є другим найбільш важливим біогенним елементом. У результаті біохімічної діяльності мікроорганізмів можуть утворюватися його з'єднання з валентністю від -3 до +5 (залежно від окиснювально-відновних умов). Кругообіг азоту складається з чотирьох етапів (рис. 13.2).

Перший етап – фіксація молекулярного азоту. Вона здійснюється аеробними й анаеробними мікроорганізмами, які фіксують азот та можуть жити вільно або у симбіозі. Кінцевим продуктом азотофіксації є іон амонію NH_4^+ , який асимілюють мікроорганізми й рослини і включають у азотовмісні органічні речовини.

Другий етап кругообігу азоту, який отримав назву амоніфікації, призводить до вивільнення аміаку, але вже в результаті процесів мінералізації органічної речовини.

Амоніфікації піддаються речовини найрізноманітнішої структури – білкові сполуки, аміоцукри, нуклеїнові кислоти, алкалоїди, сечовина та інші, причому аміак, що звільняється, витрачається по-різному. Частина його адсорбується в обмінних реакціях ґрунту, частина використовується гетеротрофними мікроорганізмами і перетворюється на білки їх клітин; деяка

кількість аміаку окиснюється хемолітотрофами до нітритів і нітратів. Він також може залишитися у вільному стані і виділятися в атмосферу [13].

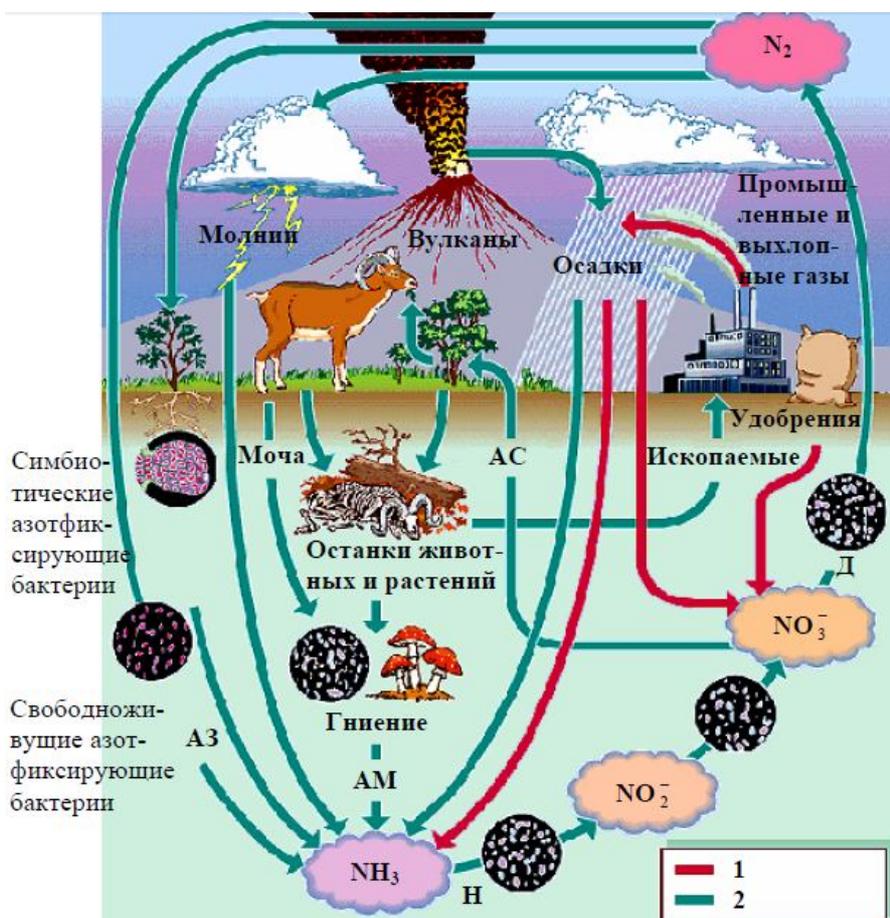


Рисунок 13.2 – Схема кругообігу азоту:

1 – діяльність людини; 2 – природна активність; АМ – амоніфікація; АС – асиміляція рослинами і мікроорганізмами; АЗ – азотофіксація; Д – денітрифікація; Н – нітрифікація

У амоніфікації беруть участь багато мікроорганізмів, включаючи неспорутворювальні і спорутворювальні бактерії, актиноміцети, мікроскопічні гриби. Залежно від стадії мінералізації органічної речовини домінують ті чи інші представники. Активними збудниками амоніфікації є бактерії роду *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Proteus* та ін.

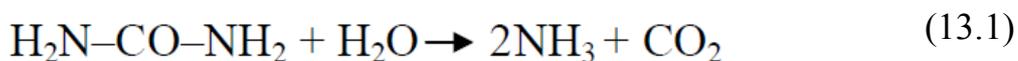
Розщеплення білків починається з гідролізу, здійснюваного позаклітинними гідролітичними ферментами, які виділяються амоніфікаторів. В результаті утворюються більш прості продукти: білок → пептони → пептиди → амінокислоти.

Амінокислоти асимілюються бактеріями як джерела живлення, і під дією внутрішньоклітинних ферментів дезамінази від них відщеплюється аміак – кінцевий продукт амоніфікації. Найчастіше спостерігається гідролітичне й окислювальне дезамінування, рідше – дезамінування, що приводить до

утворення ненасичених сполук; для анаеробних умов характерне відновне дезамінування.

Поряд із дезамінуванням може відбуватися і декарбоксилювання амінокислот. Зазвичай у кислому середовищі спостерігається декарбоксилювання, в лужному – дезамінування. Обидві ферментні системи – дезамінази і декарбоксилази – діють як механізми нейтралізації середовища, в результаті чого рН підтримується на рівні, що забезпечує нормальну життєдіяльність клітини. При декарбоксилюванні амінокислот утворюються первинні аміни, такі як кадаверин, путресцин (трупні отрути), і виділяється вуглекислий газ.

Дезамінуванню піддаються речовини і небілкової природи, наприклад сечовина. Велика кількість бактерій здатна використовувати сечовину як джерело азоту. Сечовина розщеплюється гідролітичним ферментом уреазою:



У більшості бактерій синтез уреазы пригнічується іонами амонію. Завдяки цьому кількість аміаку, що утворюється і виділяється, не перевищує тієї, що потрібна для синтезу білків. Лише у небагатьох бактерій, відомих своєю здатністю розкласти сечовину (*Bacillus pasteurii*, *Sporosarcina urea*, *Proteus vulgaris* та ін.), уреаза є конститутивним ферментом; для її утворення не потрібно індукції сечовиною, і аміак не пригнічує її синтез. Тому ці бактерії можуть розщеплювати всю наявну сечовину (наприклад, у стайнях) до аміаку. У результаті рН середовища зсувається до значень 9-10, до яких ці бактерії пристосовані.

На третьому етапі кругообігу азоту відбувається **нітрифікація**: аміак, що утворився під час амоніфікації окиснюється до нітритів і нітратів.

Типові нітрифікатори належать до хемолітоавтотрофів. Процес нітрифікації є двофазним, причому кожна фаза здійснюється різними видами бактерій.

Крім типових нітрифікаторів, багато гетеротрофних бактерій родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Xanthomonas* здатні окиснювати аміак і інші відновлені сполуки азоту до нітритів і нітратів. Цей тип нітрифікації отримав назву гетеротрофної. На відміну від нітрифікації, здійснюваної хемолітотрофними бактеріями, гетеротрофна нітрифікація не є джерелом енергії для бактерій.

Гетеротрофна нітрифікація широко поширена в природі, особливо там, де аміак утворюється в умовах високого вмісту органічної речовини, наприклад, у компостах, стічних водах.

Нітрати, які утворюються в процесі нітрифікації, споживаються певними рослинами й мікроорганізмами, що мають асиміляційну нітратредуктазну активність. Якщо нітрати є не тільки джерелами азоту, а й акцепторами електронів у безкисневих умовах, говорять про денітрифікацію. У результаті її утворюється або NH_4^+ , або N_2 , які виділяються в атмосферу і повертаються в цикл. Цей процес протікає з вивільненням NO і NO_2 в якості побічних

продуктів, які також надходять у атмосферу, де діють як гази, що створюють парниковий ефект.

3 Участь мікроорганізмів у біологічному кругообігу фосфору в природі

Фосфор, що належить до групи біогенів, являє собою хімічний елемент, без якого неможливі основні біосинтетичні реакції в клітині. Більш того, вважається, що зростання, накопичення біомаси і продуктивність живих організмів визначаються співвідношенням N : P, яке може варіювати від 10–15 до 2. Протк майже у всіх екологічних системах фосфору менше, ніж азоту, і саме він лімітує масу живої речовини. Крім того, вміст фосфору в реакціях анаболізму тісно пов'язаний з вмістом органічного вуглецю та виражається як 100 : 1.

У живих організмах фосфор присутній тільки в п'ятивалентному стані у вигляді вільних фосфатних іонів (PO_4^{3-}) або органічних фосфатних компонентів клітини. Живі клітини не здатні поглинати більшість органічних сполук, вони переважно використовують з'єднання неорганічного ортофосфату, з яких всередині них синтезуються органічні фосфоровмісні з'єднання. Після відмирання організмів відбувається мінералізація цих сполук за допомогою мікроорганізмів і фосфатний іон знову звільняється.

Проте, незважаючи на швидке функціонування кругообігу фосфору й відносно велику кількість фосфатів у ґрунтах і гірських породах, внаслідок малої розчинності фосфорних мінералів (апатитів, варисцитів, фосфатів заліза й кальцію) вміст неорганічного фосфату в багатьох природних середовищах обмежений. Доступність фосфатів лімітується також їх здатністю адсорбуватися на органічних і неорганічних полімерах. Все це призводить до того, що фосфат служить чинником, що обмежує зростання багатьох організмів.

Мікроорганізми здійснюють такі перетворення сполук фосфору: перехід у розчинну форму фосфатних мінералів, включення неорганічного фосфату в органічні сполуки клітин і мінералізацію органічних сполук фосфору.

Розчинення мінеральних фосфатів здійснюється за допомогою кислот (органічних або неорганічних), які є продуктами метаболізму мікроорганізмів. Органічні кислоти (щавлева, гліколева, оцтова, молочна, лимонна та ін.), що синтезуються багатьма гетеротрофними бактеріями і грибами, краще розчиняють апатити, оскільки крім зниження рН вони утворюють хелати з кальцієм. Гумінові кислоти, що звільняються з розкладанням органічних речовин, можуть утворювати хелати з кальцієм, залізом або алюмінієм, звільняючи ортофосфат. Продукти метаболізму хемолітотрофних бактерій – азотна та сірчана кислоти призводять до вивільнення ортофосфату з фосфоритів. Крім того, H_2S , що виділяється в процесі життєдіяльності багатьма мікроорганізмами, призводить до розчинення фосфатів заліза.

Включення (імобілізація) розчинних фосфатів у зростаючі клітини мікроорганізмів спостерігаються у всіх екосистемах, але кількість залученого фосфору невелика. У водній екосистемі основну масу фосфору накопичує фітопланктон. Відомо лише, що бактеріальні клітини містять значно більшу

кількість фосфору (1,5–25 % сухої речовини), ніж гриби (0,5–1,0 %) або рослини (0,005–0,5 %). В останні роки відзначається роль у іммобілізації фосфору і грибів-ендомікорізоутворювачів. За рахунок наявності кислих фосфатаз вони покращують постачання фосфору рослинам за впровадження гіф і утворення везикулярно-арбускулярної мікоризи.

Мінералізацію фосфоромісних органічних речовин здійснюють майже всі гетеротрофні мікроорганізми, які синтезують різні ферменти, такі як нуклеази, фосфоліпази, фітаза та ін.

Кругообіг фосфору в основному є односпрямованим, тому що розчинні фосфати постійно переносяться з ґрунтового середовища в моря і океани та внаслідок вилуговування осідають у них. Єдине джерело надходження (повернення) фосфатів на сушу – процеси вивітрювання. Крім того, відмінною рисою кругообігу фосфору від інших біогенних елементів є відсутність його у вигляді газоподібних з'єднань.

Під час техногенних забруднень водойм стічними водами багатими фосфатами, що містяться в детергентах, інсектицидах тощо, спостерігається надмірне розмноження в них водоростей і різке збільшення їх продуктивності. Це призводить до серйозних екологічних проблем сучасності – переходу водойм від оліготрофного стану до евтрофного. Підвищення рівня первинної продукції при евтрофікації пов'язане з накопиченням у водоймах органічної речовини під час розкладання водоростей, яка не встигає мінералізуватися. Крім того, в процесі розкладання органічної речовини водоростей відбувається інтенсивне поглинання кисню гетеротрофами, що може привести до виснаження у водоймі запасу розчиненого кисню і подальшої загибелі його тваринного світу (в першу чергу риби). Така поступова біологічна деградація прісноводних водойм на сьогодні набула широких масштабів. Вирішення цієї проблеми можливе лише за припинення скидів у водойми стічних вод і їх очищення.

Контрольні питання

1. За рахунок чого відбувається руйнування органічних речовин?
2. Механізм руйнування органічних речовин.
3. Участь мікроорганізмів у біологічному кругообігу вуглецю в природі.
4. Чотири етапи кругообігу азоту в природі.
5. Роль мікроорганізмів у біологічному кругообігу фосфору в природі.

Лекція 14 Мікрофлора біосфери

1. Мікроорганізми ґрунту.
2. Мікроорганізми повітря.

1 Мікроорганізми ґрунту

Ґрунт – це верхній пухкий шар земної кори, вкритий рослинністю і родючий.

Утворення ґрунту – складний тривалий історичний процес. Ґрунт утворився в результаті зміни материнських гірських порід під впливом фізичних та біологічних факторів. Він містить як мінеральні, так і органічні речовини. У результаті фізичних і хімічних процесів вивітрювання твердих порід утворюються уламки каменів різної величини; далі мінеральні залишки можуть розпушуватися водою, льодом, вітром і брати участь у формуванні ґрунту.

У ґрунтоутворенні беруть участь три групи організмів: зелені рослини, мікроорганізми і тварини, що утворюють на суші складні біоценози. За спільного впливу організмів у процесі їх життєдіяльності здійснюються найважливіші ланки ґрунтоутворення: синтез і руйнування органічної речовини, виборча концентрація біологічно важливих елементів, руйнування й новоутворення мінералів, міграція і акумуляція речовин і інші явища, які становлять сутність ґрунтоутворювального процесу і визначають формування головної властивості ґрунту – родючості. Разом із тим функції кожної з цих груп в різні.

Ґрунт має деякі властивості, яких позбавлені повітряне та водне середовища. Частинки ґрунту утворюють «дрібнопористий фільтр», який досить ефективно затримує тверді суспензії з вод. У той же час пори є скарбничкою поживних речовин. Всю систему «цементують» частинки глини та гумусу, які адсорбують цілу низку речовин. Таким чином, ґрунти протягом років можуть утримувати шкідливі речовини, не даючи останнім можливості перейти у ґрунтові води. Після вичерпання адсорбційної ємності настає проскок – несподіване забруднення ґрунтових вод, навіть без надходження шкідливих речовин. Слід зазначити, що ґрунти мають здатність до регенерації. Багато його мешканців є джерелом ферментів, у присутності яких шкідливі речовини розщеплюються швидше, ніж у воді або повітрі.

Мікрофлора ґрунту характеризується великою різноманітністю мікроорганізмів, які беруть участь в процесах утворення та самоочищення, кругообігу в природі азоту, вуглецю та інших елементів.

У ґрунті розвиваються бактерії, гриби, водорості й найпростіші, що входять до складу лісових і трав'янистих біоценозів. Загальна кількість мікроорганізмів обчислюється мільйонами і мільярдами в 1 м. Їх кількість мінімальна північних широтах (підзолисті) і максимальна в чорноземах і сіроземах, що формуються під трав'янистою рослинністю. На поверхні ґрунту мікроорганізмів досить мало, оскільки на них згубно діють ультрафіолетові промені, висушування тощо. Найбільша кількість мікроорганізмів знаходиться у верхніх горизонтах нижче від поверхні їх менше, приблизно на глибині 3-4 м вони практично відсутні. Характерна нерівномірність розподілу мікроорганізмів у масі ґрунту: максимальну їх кількість зосереджено близько живих корінців і на поверхні мертвих рослинних залишків. Ця плівка, збагачена мікроорганізмами, називається

ризосферою. Більшість мікроорганізмів здатні розвиватися за нейтрального рН, високої відносної вологості, значеннях температури 25–45 °С.

Кислі ґрунти менш сприятливі для життєдіяльності мікроорганізмів.

Видовий склад мікрофлори залежить від типу ґрунту. Найбільш широко поширені мікроорганізми-гетеротрофи, які здійснюють розкладання органічних речовин. Багато кокових форм, спороутворювальних паличок. У ній завжди є актиноміцети, дріжджі. Багато бактерій-нітрифікаторів. Із найпростіших найбільш поширені саркодові (амеби), джгутикові і деякі види інфузорій.

У ґрунті можуть досить довго зберігатися деякі хвороботворні бактерії.

Мікроорганізми беруть участь у створенні гумусу (перегною), склад якого визначається діяльністю різних груп мікроорганізмів.

Гриби. Розростаючися на поверхні або вглибині субстрату, гриби стикаються з ним клітинною оболонкою, через яку виділяють у зовнішнє середовище ферменти і поглинають поживні речовини абсорбтивним шляхом. Ґрунтові і гриби представляють найбільшу екологічну групу, що бере участь у мінералізації органічних залишків рослин і тварин і в утворенні гумусу.

У наземних біогеоценозах основна маса грибів зосереджена в ґрунті, де їх міцелій досягає загальної довжини 700–1 000 м в 1 г ґрунту. Серед ґрунтових грибів виділяють п'ять екологічних груп на підставі, головним чином, їх взаємовідносин із вищими рослинами:

- 1) паразити, що знаходяться здебільшого у вигляді спор або форм, які перебувають у стані спокою;
- 2) факультативні паразити підземних і наземних частин рослин;
- 3) сапрофіти;
- 4) мікоризоутворювачі;
- 5) хижі гриби.

Виділяють також велику групу грибів-симбіонтів, живуть співіснують з водоростями і ціанобактеріями в складі лишайників.

Серед грибів-сапрофітів найбільш поширені цвілеві з *rodів Aspergillus, Penicillium, Trichoderma, Rhizopus*. В аеробних умовах вони синтезують і виділяють у зовнішнє середовище різноманітні гідролітичні ферменти, що розщеплюють за добу клітковину, лігнін, жири, білки та інші органічні сполуки. Гриби розкладають у 2–7 разів більше органічної речовини, ніж споживають. Вони беруть участь також у мінералізації гумусу ґрунту.

Водорості. Ґрунтовими водоростями називають екологічне угруповання тих видів водоростей, життя яких постійно пов'язане з ґрунтом. Це прості одноклітинні організми, нитки або колонії. Серед них розрізняють наземні форми, які за сприятливих умов розростаються на поверхні у вигляді кірочок або плівок; водно-наземні, що живуть у водному середовищі постійно вологих ґрунтів; власне ґрунтові, що мешкають у товщі ґрунтового шару.

Ґрунтові водорості поширені повсюдно, головним чином у поверхневих шарах, де умови для них найбільш сприятливі. Волога – один із найважливіших екологічних чинників, що визначає поширення водоростей.

Функції водоростей у ґрунтах визначаються, перш за все, їх приналежністю до фотоавтотрофної групи організмів – первинних продуцентів

органічної речовини. Продуктивність водоростей у наземних біогеоценозах незрівнянно менша, ніж продуктивність вищих рослин, проте їх біомаса мінлива, вона швидко накопичується за сприятливих умов і легко мінералізується, а також служить їжею для безхребетних тварин.

Потреба водоростей у поживних речовинах різна. На світлі водорості завдяки наявності хлорофілу використовують вуглець (CO₂). Джерелом азоту для них є мінеральні форми цього елемента. Нітрати вони засвоюють легше інших з'єднань. Водорості, що живуть у темряві, потребують джерел органічного вуглецю і використовують його з рослинних залишків або з продуктів обміну речовин бактерій. У цих умовах найкраще джерело азоту для них – амонійний азот. Для водоростей сприятливий високий вміст органічних речовин, тому вони у великих кількостях зустрічаються в окультурених і садових ґрунтах.

У болотних ґрунтах і на рисових полях водорості поліпшують аерацію, засвоюючи розчинений CO₂ і виділяючи у воду кисень.

Ґрунтові водорості можуть бути біоіндикаторами процесів, протікають у ґрунті, газового і сольового режимів, забруднення продуктами промислової діяльності людини.

Найпростіші виявлені у всіх ґрунтах, незалежно від типу й географічного місцезнаходження. Проте їхня кількість залежить від типу, вмісту органічної речовини, вологості, сезону року, рослинності та інших факторів, коливається в значних межах і може досягати декількох мільйонів в 1 г абсолютно сухого ґрунту. У посушливі періоди, а також взимку кількість їх у ґрунті різко зменшується, при цьому вони переходять у інертний стан, у форму цист. Біомаса в сприятливих умовах досягає 30–40 г/м².

У найпростіших складні відносини з іншими ґрунтовими мікроорганізмами. Вони поїдають бактерії, клітини дріжджів і водоростей, проявляючи при цьому вибірковість у виборі їжі. Є серед найпростіших і сапрофаги. Основна роль найпростіших в ґрунті – участь у розкладанні органічної речовини і поїдання клітин мікроорганізмів. Так ґрунтові амеби, крім інших бактерій, активно поглинають клітини азотобактера. Знищуючи частину клітин, найпростіші підтримують чисельність азотобактерій на певному рівні; крім того, біологічно активні речовини найпростіших позитивно впливають на фіксацію азоту атмосфери ґрунтовими мікроорганізмами.

У ґрунті живуть представники трьох класів найпростіших: джгутіконосці (*Flagellata*), саркодові (*Sarcodina*) і інфузорії (*Ciliata*). Серед джгутіконосців є види, що містять у клітинах пігменти, в тому числі хлорофіл, і здатні до фотосинтезу. Це рослинні джгутіконосці, або фітомастігні. Вони займають проміжне положення між рослинами і тваринами. Типовий представник – *Euglena viridis* (Евглена зелена).

Бактерії. У ґрунтах присутня велика кількість бактерій.

Бульбочкові бактерії (*Rhizobium*) – рухливі палички, не утворюють спор. Вони фіксують азот і під впливом цих бактерій тканина кореня розростається й утворює бульби.

Ентеробактерії є активним збудником гнильного процесу, за якого відбувається розпад білків тваринного походження. Вони також здатні гідролізувати сечовину.

Міксобактерії і цитофаги – слизоутворювальні ковзаючі бактерії. У них складний цикл розвитку з утворенням плодових тіл. Крім ґрунту, міксобактерії ростуть на гної трав'янистих тварин, на корі дерев. Вони важливі агенти розкладання целюлози (*Polyangium*).

До оліготрофних ґрунтових бактерій належать і *Seliberia stellata*. Під час зростання їх на середовищах із гуматів заліза відбувається відкладення гідрату окису заліза, тому їх відносять до залізобактерій.

Актиноміцети розкладають клітковину, лігнін, перегнійні речовини ґрунту. Беруть участь в утворенні гумусу. Актиноміцети краще розвиваються в ґрунтах із нейтральною або слаболужною реакцією, багатих органічною речовиною і добре оброблюваних.

Спороутворюючі бактерії – майже всі хемогетеротрофи, що використовують органічні субстрати в процесах аеробного або анаеробного дихання чи бродіння.

Аеробні бактерії, що вільно живуть або патогенні бактерії паличковподібної форми (**бацили**) беруть участь у багатьох процесах, пов'язаних із розкладанням різних органічних субстратів, складаючи групу гідролітиків. Викликають амоніфікацію білків (*B.subtilis*, *B.mycoides*), сечовини (*B.pasteurii*), сечової кислоти (*B.fastidiosus*), розкладання фосфорорганічних сполук (*B.megaterium*).

Спороутворювальні анаероби в ґрунтах представлені родами *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Anaerobacter*. Це досить великі палички (від 3 до 30 мкм). Їх спори стійкі до нагрівання й кисню. Серед них можна виділити кілька груп за фізіологічними функціями:

Коренеподібні бактерії – грампозитивні прокаріоти. Це гетеротрофи, які беруть участь у процесах мінералізації органічних речовин у аеробних умовах. Їх кількість зростає в ґрунтах, бідних свіжими органічними залишками, і в екстремальних умовах. Вони складають основну масу мікробного населення ґрунтів тундри, високогірних районів і пустель.

Археї складають вид *Mendosicutes*. До них належать:

– метаногени – це бактерії, які беруть участь у процесі анаеробного розкладання органічного субстрату, кінцевим продуктом якого є метан;

– сіркоокиснювальні – аеробні архебактерії, які беруть участь у окисненні з'єднань сірки та закисного заліза в термоацидофільних умовах. Вони представлені одним родом *Sulfolobus*;

– сірковідновлювані – анаеробні архебактерії, відновлюючі елементарну сірку до H_2S . Це екстремальні термофіли з оптимумом від 85 °С до 105 °С (*Thermoproteus*, *Thermococcus*, *Thermodiscus*);

– галобактерії беруть участь у циклах вуглецю й азоту в умовах сильного засолення. Вони аероби або факультативні анаероби (*Haloarcula*, *Halobacterium*).

2 Мікроорганізми повітря

Повітря як середовище існування для мікроорганізмів менш сприятливе, ніж ґрунт і вода, оскільки в ньому не міститься або міститься дуже мало поживних речовин, необхідних для розмноження мікроорганізмів. Крім того, на них сильніше діють такі несприятливі фактори, як висушування й ультрафіолетові промені сонячного світла. Проте, потрапляючи в повітря, багато мікроорганізмів можуть зберігатися в ньому більш-менш тривалий час. Повітря найбільш забруднене поблизу земної поверхні, а в міру підйому вгору стає більш чистим. На ступінь забруднення повітря мікробами впливають і кліматичні умови. Найбільше мікробів у атмосфері міститься влітку, найменше – взимку. Головним джерелом забруднення повітря є ґрунт, меншою мірою – вода.

У повітрі в природних умовах виявляються сотні видів сапрофітних мікроорганізмів, представлених коками (в тому числі сарцин), споровими бактеріями і грибами, що відрізняються великою стійкістю до висушування та інших несприятливих умов зовнішнього середовища, наприклад дії сонячних променів. Потрібно розрізняти повітря відкритих просторів (відносно чисте, тому що позначається дія сонячних променів, висушування та інших факторів) і повітря закритих приміщень. В останніх фактори самоочищення діють слабше, тому і забрудненість може бути значно більше. У повітрі закритих приміщень, особливо якщо вони погано провітрюються, накопичується мікрофлора, що виділяється через дихальні шляхи людини.

Патогенні мікроорганізми потрапляють в повітря з мокротиння і слини під час кашлю, розмови та чхання. Навіть здорова людина при кожному акті чхання виділяє в повітря 10 000–20 000 мікробних тіл, а хворий іноді в багато разів більше. Кількість мікробів у повітрі варіює у великих діапазонах – від декількох бактерій до десятків тисяч їх на 1 м^3 . У 1 г пилу може міститися до 1 млн бактерій. Загальна кількість мікробів у операційній до операції не повинна перевищувати 500 в 1 м^3 , а після операції – 1 000 в 1 м^3 .

Для дослідження мікрофлори повітря використовують різні методи: седиментацію (метод Коха), фільтраційний (повітря продувають через воду) і методи, засновані на принципі ударної дії повітряного струменя з використанням спеціальних приладів. Останні методи найбільш надійні, оскільки дозволяють точно визначити кількісне забруднення повітря мікроорганізмами і вивчити їх видовий склад.

Контрольні питання

1. Із яких груп мікроорганізмів складається мікрофлора ґрунту?
2. Які мікроорганізми беруть участь у ґрунтоутворенні?
3. Механізм очищення ґрунту.
4. Яка роль належить анаеробним мікроорганізмам ґрунту?
5. Видова різноманітність ґрунтових бактерій.
6. Які мікроорганізми живуть у повітрі?
7. Які методи використовують для дослідження мікрофлори повітря?

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Дудник С. В. Водна токсикологія: основні теоретичні положення та їхнє практичне застосування : монографія / С. В. Дудник, М. Ю. Євтушенко. – Київ : Вид-во Українського фітосоціологічного центру, 2013. – 297 с.
2. Кульський Л. А. Хімія і мікробіологія води: практикум / Л. А. Кульський, Т. М. Левченко, М. В. Петрова. – Київ : Вища школа, 1987. – 172 с.
3. Нікітін Г. А. Біохімічні основи мікробіологічних виробництв / Г. А. Нікітін. – Київ : Вища школа, 1994. – 268 с.
4. Орловский З. А. Очистка сточных вод в аэротенках / З. А. Орловский. – М. : Высшая школа, 1963. – 126 с.
5. Ротмістров М. М. Мікробіологія очищення води / М. М. Ротмістров, П. Гвоздяк, С. С. Ставська. – Київ : Наукова думка, 1978. – 268 с.
6. Таубе П. Р. Химия и микробиология воды / П. Р. Таубе, А. Г. Баранова. – М.: Высшая школа, 1983. – 280 с.
7. Фонкен Г. Микробиологическое окисление / Г. Фонкен Р. Джонсон, пер. с англ, за общ. ред. А. Н. Коста. – М. : Мир, 1991. – 239с.
8. Яковлев С. В. Биохимические процессы в очистке сточных вод / С. В. Яковлев., Т. А. Карюхина – М. : Стройиздат, 1980. – 200 с.
9. Гудзь С. П. Мікробіологія : підручник / С. П. Гудзь, С. О. Гнатуш, І.С. Білінська. – Львів : Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. – 360 с.
10. Карпов О. В. Сучасні напрями в мікробіології : конспект лекцій / О. В. Карпов. – Київ : НУХТ, 2004. – 84 с.
11. Клещев Н. С. Загальна промислова біотехнологія: технологія бродильних виробництв : навч. посібник / Н. С. Клещев, М. П. Бенько. – Харків : НТУ «ХП», 2007. – 200 с.
12. Нетрусов А. И. Микробиология: учебник / А.И. Нетрусов, И. Б. Котова. – М. : Издательский центр «Академия», 2006. – 352 с.
13. Лысак В.В. Микробиология : учеб. пособие / В. В. Лысак. – Минск : БГУ, 2007. – 430с.

Навчальне видання

ЧУБ Ірина Миколаївна

МІКРОБІОЛОГІЯ І ХІМІЯ ВОДИ

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ

*(для студентів 1–2 курсів денної і заочної форм навчання
галузі знань 19 – Архітектура та будівництво,
спеціальності 192 – Будівництво та цивільна інженерія,
спеціалізація (освітня програма) «Гідротехніка» (Водні ресурси))*

Редактор *О. В. Щегельська*

Відповідальний за випуск *Г. І. Благодарна*

Комп'ютерне верстання *І. М. Чуб*

План 2016, поз.76М

Підп. до друку 10.04.2018. Формат 60 x 84 1/16.

Друк на ризографі. Ум. друк. арк.7,8.

Тираж 50 пр. Зам. № .

Видавець і виготовлювач:

Харківський національний університет
міського господарства імені О. М. Бекетова,
вул. Маршала Бажанова, 17, Харків, 61002.

Електронна адреса: rectorat@kname.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:

ДК № 5328 від 11.04.2017.