

МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ: перспективы использования при очистке **СТОЧНЫХ ВОД**

Во многих биотехнологических процессах, в том числе в системах очистки сточных вод, участвуют ассоциации микроорганизмов, формирующие структурированные сообщества, заключенные во внеклеточный полимерный матрикс (биопленки). Введение (биоаугментация) в состав биопленок микроорганизмов-спутников стимулирует активность микроорганизмов-деструкторов и защищает их от экстремальных воздействий окружающей среды.

В природных условиях подавляющее большинство микроорганизмов существует в виде структурированных ассоциаций, обозначаемых общим термином «биопленки» [1]. Аналогичные ассоциации создаются во многих биотехнологических процессах: при биоремедиации почв [2], при микробном выщелачивании металлов из руд [3] в процессе очистки сточной воды [4] и во многих других случаях. Существуют специальные приемы, усиливающие формирование таких микробных ассоциаций. Эти приемы применяются в технологически важных процессах для повышения их эффективности, поскольку микроорганизмы, входящие в состав биопленок, характеризуются высокой устойчивостью к биоцидам и антибактериальным препаратам, а также к другим экстремальным воздействиям среды [1].

Остановимся подробнее на использовании биопленок в процессах очистки сточных вод. Основными системами очистки сточных вод в настоящее время являются биофильтры и биореакторы, к которым относятся аэробные аэротенки, анаэробные метантенки и некоторые другие.

В биофильтрах очищаемая вода фильтруется через твердый носитель, покрытый плотной микробной биопленкой, содержащей микроорганизмы, удаляющие поллютанты – минерализующие органические вещества-загрязнители, а также окисляющие аммоний, поглощающие фосфаты, тяжёлые металлы, восстанавливающие нитраты. В сооружениях такого рода применяют различные биологически инертные носители («загрузку») (керамика, пеностекло, органические полимерные элементы) или устройства, увеличи-

вающие поверхность соприкосновения биопленки с очищаемой водой (блюдисковые фильтры) [5]. В таких сооружениях формируются биопленки разной степени структурированности [1].

В биореакторах (аэротенках и других) используется так называемый «активный ил». Активный ил представляет собой сообщество различных микроорганизмов, включающее, прежде всего, бактерии, а также другие одноклеточные организмы – грибы, простейшие и микроскопические животные (нематоды, коловратки, водные клещи), из которых формируются специфические образования – флоккулы. Флоккулы можно рассматривать как суспендированные малоструктурированные биопленки недифференцированного типа [1], содержащие самоимобилизованные клетки. Чем больше биоразнообразие формирующегося биоценоза, тем выше жизнеспособность и устойчивость системы. Применение флоккул для очистки сточных вод имеет ряд важных преимуществ. Прежде всего, это высокая скорость осаждения, что обеспечивает эффективное отделение активного ила от очищенной воды и высокую скорость протока жидкости, и, как следствие, высокую эффективность очистных сооружений. Не менее важным свойством флоккул ила являются высокие и стабильные скорости метаболических процессов, устойчивость к шок-воздействиям среды и биоцидам, благодаря защитной роли внеклеточного полисахаридного матрикса [1]. Наконец, эти биопленки характеризуются длительным «временем удерживания» микроорганизмов и иммобилизацией их биомассы внутри агрегатов активного ила. Последнее свойство данных биопленок создает благоприятные условия для биоаугментации, т.е. интродукции в их состав специфических микробных компонентов, позволяющих эффективно устранять из сточных вод токсичные ксенобиотики [6]. Морфологически более структурированным сообществом, по сравнению с активным илом («флоккулированным активным илом»), является сообщество так называемых «гранулированных» активных илов,

В.К. Плакунов*,
д.б.н., проф.,
главный научный
сотрудник
лаборатории
нефтяной
микробиологии
Института
микробиологии
им. С.Н.Виноградского,

Ю.А. Николаев,
к.б.н.,
главный специалист
ИТЦ МГУП
«Мосводоканал»

* Адрес для корреспонденции: plakunov@inmi.host.ru

для которых характерна чётко выраженная зональность в расположении микроорганизмов различных физиологических групп. В чередующихся анаэробно-аэробных условиях гетеротрофные и автотрофные микроорганизмы конкурируют внутри биопленки за пространство и кислород. Быстрорастущие гетеротрофные микроорганизмы располагаются на внешнем уровне, а медленно растущие автотрофы (нитрификаторы) – во внутренних зонах биопленки. В самом центре гранул располагаются фосфат-аккумулирующие микроорганизмы – денитрификаторы (окисляющие органические субстраты с использованием нитрата). Из-за чётко выраженной стратификации такие гранулы называют «сферическими биоплёнками» [7-11].



Такие гранулы активного ила характеризуются существенно более высокими скоростями осаждения, по сравнению с флоккулами обычного активного ила (20-50 м/ч по сравнению с 0.2-5 м/ч, соответственно), а также большей прочностью, что позволяет многократно повышать дозу активного ила в биореакторах и, соответственно, интенсифицировать процесс очистки сточных вод.

Взаимодействию микробных компонентов, входящих в состав биопленок, посвящено значительное количество исследований, однако, до последнего времени основное внимание в них уделялось микроорганизмам, принимающим непосредственное участие в процессе удаления токсичного компонента. Так, например, при очистке воды или почвы от нефтяных загрязнений используют микробные препараты, включающие несколько микроорганизмов-нефтеокислителей с разной специфичностью воздействия на компоненты нефти, как, например, в препаратах «экосорб» [2] и «деворойл» [12]. Такой подход оказался весьма перспективным, но при этом не учитывается влияние на процесс других микробных компонентов, которые всегда присутствуют в биопленках *in situ*. Эти микроорганизмы-спутники сами по себе часто не способны осуществлять разложение загрязнений, но могут активировать жизнедеятельность микроорганизмов-деструкторов. Между компонентами биопленок устанавливаются трофические и регуляторные связи вплоть до симбиоза [1], при которых образование или потребление какого либо субстрата в биопленке происходит с большей интенсивностью, чем в отсутствие микроорганизмов-спутников [13].

Использование биопленок в последнее время получает все большее распространение, особенно в связи с применением подхода, который можно назвать «биоплёнка-биореактор». В такой биоплёнке помимо микроорганизма (или микроорганизмов), осуществляющих

основной, целевой для человека процесс, присутствуют специально введённые в неё организмы, повышающие их устойчивость и/или производительность микроорганизмов-деструкторов. В итоге введение дополнительных микробных компонентов, активирующих или защищающих основные микроорганизмы, формирующие подобные биореакторы, может существенно повышать эффективность всего процесса очистки сточных вод. Проиллюстрируем это положение следующим примером, когда дополнительный биокомпонент вводится в биопленку на основании исследования состава и взаимодействия микроорганизмов данного сообщества. В настоящее время нефть и продукты ее переработки являются одними из главных загрязнителей как почвы и пресноводных водоемов, так и вод мирового океана. При изучении деградации нефти нефтеокисляющими микроорганизмами нам удалось показать, что в реконструированных биопленках, содержащих нефтеокисляющие микроорганизмы и их естественные спутники, неспособные к окислению нефтепродуктов, процесс окисления углеводородов протекает со скоростями, многократно превышающими скорости окисления этих субстратов в отсутствие спутников. Это обусловлено выделением спутниками в среду веществ, активирующих жизнедеятельность нефтеокислителей. [14, 15]. Роль спутников в биопленках может также заключаться в предохранении микроорганизма-деструктора от стрессового воздействия окружающей среды. Также нами было установлено, что галофильный спутник в составе биопленки предохраняет негалофильного нефтеокислителя от гиперосмотического шока за счет образования осмопротекторных веществ [16, 17]. Таким образом, представленные примеры иллюстрируют целесообразность применения биопленок контролируемого состава, что позволяет увеличить производительность систем для очистки сточных и промышленных вод без значительных дополнительных затрат. В использовании такого подхода важными и одинаково необходимыми являются как формирование собственно биоплёнки, так и регулирование состава её сообщества (биоаугментация).

Литература

1. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. 2007. Т. 76. № 2. С. 149-163.
2. Холоденко В.П., Чугунов В.А., Жиглецова С.К., Родин В.Б., Ермоленко З.М., Фомченков В.М., Ирхина И.А., Кобелев В.С., Волков В.Я. Разработка биотехнологических методов

ликвидации нефтяных загрязнений окружающей среды // Рос. хим. журнал. 2001. Т. 45. С. 135-141.

3. Rawlings D.E., Johnson D.B. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia // *Microbiology*. 2007. V. 153. P. 315-324.

4. Weber S.D., Ludwig W., Schleifer K.-H., Fried J. Microbial composition of aerobic granular sewage biofilm // *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. V. 73. P. 6233-6240.

5. Нечаев А.П., Славинский А.С. и другие. «Интенсификация доочистки биологически очищенных сточных вод». Водоснабжение и санитарная техника, 1991. №12.

6. Wuertz S., Okabe S., Hausner M. Microbial communities and their interactions in biofilm systems: an overview // *Water Sci. Technol.* 2004. V. 49. P. 327-336.

7. Tjihuis, L., Van Benthum, W.A.J., Van Loosdrecht, M.C.M. and Heijnen, J.J. Solids retention time in spherical biofilms in a biofilm airlift suspension reactor // *Biotechnol. Bioeng.* 1994, V. 44. P. 867-879.

8. Morgenroth E., Sherden T. van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J., Wilderer P.A. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor // *Water Res.* 1997. V. 31. P. 3191-3194.

9. Beun J.J., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J. Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor // *Water Res.* 2002. V. 36. P. 702-712.

10. Van Loosdrecht M.C.M., Tjihuis L., Wijdieks A.M.S. and Heijnen J.J. Population distribution in aerobic biofilms on small suspended particles. // *Wat. Sci. Tech.*, 1995. V. 31. P. 163-171.

11. Okabe S., Hirata K. and Watanabe Y. Dynamic changes in spatial microbial distribution in mixed-population biofilms: exper-

imental results and model simulation // *Wat. Sci. Tech.* 1995. V. 32. P. 67-74.

12. Беляев С.С., Борзенков И.А., Назина Т.Н., Розанова Е.П., Глумов И.Ф., Ибатуллин Р.Р., Иванов М.В. Использование микроорганизмов в биотехнологии повышения нефтеизвлечения // *Микробиология*. 2004. Т. 73. № 5. С. 687-697.

13. Weimer P.J. Cellulose degradation by ruminal microorganisms // *Crit. Rev. Biotechnol.* 1992. V. 12. P. 189-223.

14. Журина М.В., Воронина Н.А., Безрукова Е.А., Лебедева И.В., Плакунов В.К. Зависимость способности микроорганизмов к окислению парафинов от состава реконструированных биопленок // Международная научная конференция «Микроорганизмы и биосфера». Тезисы докладов. Москва, 19-20 ноября 2007. С. 46.

15. Журина М.В., Стрелкова Е.А., Плакунов В.К., Беляев С.С. Влияние состава реконструированных биопленок на активность парафиноокисляющих бактерий // *Микробиология*. 2008. Т. 77. № 5.

16. Журина М.В., Соболева Г.С., Плакунов В.К. Устойчивость нефтеокисляющих микроорганизмов к осмотическому шоку в реконструированных биопленках / III Международная молодежная школа-конференция «Актуальные аспекты современной микробиологии» / Тезисы докладов. Москва. 22-23 ноября 2007. С. 34.

17. Плакунов В.К., Журина М.В., Беляев С.С. Устойчивость нефтеокисляющего микроорганизма, *Dietzia* sp. к гиперосмотическому шоку в реконструированных биопленках // *Микробиология*. 2008. Т. 77. № 5.



V.K. Plakunov, Y.A. Nikolaev

MICROBIAL BIOFILMS: POTENTIAL OF USING IN WASTE WATER TREATMENT

In many biotechnological processes, including wastewater treatment systems, the associations of microorganisms are involved, forming as a result structured

communities within an out-of-cell polymer matrix (biofilms). The paper examines the advantages and effectiveness of using these biofilms.

Key words:
biofilms, water treatment, bioaugmentation, oxidation of hydrocarbons, hyperosmotic shock.