



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра геоэкологии, природопользования и экологической безопасности

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

На тему Участие эукариотических микроорганизмов в процессах очистки сточных вод от органического загрязнения

Исполнитель _____ Толстоусова Анна Александровна _____
(фамилия, имя, отчество)

Руководитель _____ кандидат биологических наук, доцент _____
(ученая степень, ученое звание)

_____ Мухин Иван Андреевич _____
(фамилия, имя, отчество)

«К защите допускаю»
Заведующий кафедрой _____
(подпись)

_____ кандидат биологических наук, доцент _____
(ученая степень, ученое звание)
_____ Мухин Иван Андреевич _____
(фамилия, имя, отчество)

« 16 » _____ 2025 г.

Санкт-Петербург
2025

Список сокращений

АОХ – Адсорбируемые органические галогены

БПК – Биохимическое потребление кислорода

БПК₅ – Биохимическое потребление кислорода за 5 суток

КМО – Каталитическое мокрое окисление

ПАВ – Поверхностно-активные вещества

ПДК – Предельно допустимая концентрация

СОЗ – Стойкие органические загрязнители

СПАВ – Синтетические поверхностно-активные вещества

ХПК – Химическое потребление кислорода

Оглавление

Введение	4
1. Методы очистки сточных вод от органических загрязнений.....	6
1.1 Классификация сточных вод, их состав и объемы	6
1.2 Влияние органического загрязнения на водные экосистемы	9
1.3 Способы очистки сточных вод	11
2. Методы исследования	18
2.1 Приготовление модельного загрязнителя	18
2.2 Подготовка опытных групп и запуск эксперимента	20
2.3 Методика определения количества органических веществ	22
2.4 Оценка состояния биоты в эксперименте	25
3. Результаты исследования	29
3.1 Динамика микробиологических показателей в ходе эксперимента	29
3.2 Анализ интенсивности биологической очистки и роли эукариотного сообщества.....	34
Заключение	38
Список использованных источников.....	41
Приложение А	44

Введение

Пресноводные экосистемы играют ключевую роль в поддержании биологического баланса и обеспечении населения чистой водой. Однако растущая антропогенная нагрузка, особенно в виде органических загрязнений, существенно снижает их способность к естественному самоочищению. По данным доклада ООН 2022 г., около 36% контролируемых речных систем мира содержат опасные концентрации органических соединений, что приводит к сокращению биоразнообразия и увеличению затрат на очистку воды [25]. В России ситуация усугубляется высокой зависимостью от поверхностных источников – они обеспечивают около 70% питьевой воды. Это делает проблему их загрязнения критически важной для экологии и экономики.

Актуальность: Проблема очистки сточных вод от органических загрязнителей требует поиска новых решений, поскольку традиционные технологии обладают рядом существенных недостатков. Аэротенки, химическое окисление и другие методы очистки требуют высоких энергозатрат и сложной инфраструктуры. Это ограничивает их применение в естественных условиях. Также есть риск образования токсичных побочных продуктов. Аутохтонные микробные сообщества, уже адаптированные к условиям водоемов, могут обеспечивать эффективную биodeградацию без дополнительных энергетических затрат, что делает их перспективной альтернативой для очистки сточных вод в природных водоемах.

Цель: исследовать возможность биологической очистки сточных вод от органических загрязнителей в естественных условиях с использованием микроорганизмов, выделенных из аквариумной экосистемы, и оценить их потенциал для самоочищения водоемов.

Задачи:

1. Создать модель органического загрязнения.
2. Описать сукцессионный процесс в условиях избыточного количества органического вещества.

3. Оценить эффективность деструкции органических веществ в присутствии эукариотических организмов.

4. Разработать рекомендации по применению эукариотических организмов для очистки сточных вод в природных условиях.

Предмет: Процесс биологической очистки сточных вод от органических загрязнений в естественных условиях.

Объект: Эукариотические сообщества микроорганизмов и их роль в деструкции органических веществ в сточных водах

Гипотеза: Аутохтонные эукариотические сообщества способны эффективно очищать воду от органического загрязнения даже в присутствии аммиака за счет формирования устойчивых пищевых цепей.

1. Методы очистки сточных вод от органических загрязнений

1.1 Классификация сточных вод, их состав и объемы

Согласно нормативным требованиям СП 32.13330.2018 (п. 3.1) [22], сточные воды систем централизованной канализации классифицируются на три принципиально различающиеся категории, каждая из которых обладает специфическими характеристиками происхождения, состава и объемов сброса.

Бытовые сточные воды формируются в результате хозяйственно-бытовой деятельности населения. Основными источниками являются жилые дома, общественные здания и объекты социальной инфраструктуры. Качественный состав бытовых сточных вод регламентирован п. 3.2 указанного свода правил и включает в себя органические вещества (40–60% от общей массы загрязнений), такие как белки, жиры и углеводы, взвешенные минеральные и органические частицы (30-40%), поверхностно-активные вещества, а также биогенные элементы – азот и фосфор, способствующие эвтрофикации водоемов. Норма водоотведения составляет 200-300 литров в сутки на одного человека, что соответствует среднесуточному объему 120-250 м³/сутки на 1000 жителей.

Производственные сточные воды образуются в процессе технологических циклов промышленных предприятий. Они делятся на два типа. К первому относят загрязненные воды, требующие очистки, которые содержат механические примеси, органические соединения – нефтепродукты, фенолы, синтетические поверхностно-активные вещества (СПАВ), а также токсичные компоненты, например, тяжелые металлы. Второй тип – условно-чистые воды, преимущественно охлаждающие, которые могут сбрасываться без предварительной обработки (п.3.4) [22].

Объемы производственных стоков варьируются в зависимости от отрасли. Например, в пищевой промышленности удельное водоотведение достигает 5-15 м³ на тонну продукции (п. 4.8), в то время как в металлургии этот показатель может превышать 50 м³/т.

Атмосферные (ливневые) воды формируются в результате выпадения атмосферных осадков и снеготаяния. В их состав входят твердые взвешенные вещества такие как песок, глина, почвенные частицы, нефтепродукты с дорожных покрытий и противогололедные реагенты (п. 3.6). Максимальной токсичности достигают в первые минуты ливня из-за эффекта промывки. Расчетный объем ливневых стоков определяется по формуле 1 (п. 5.2.1).

$$Q=q \cdot F \cdot \psi, \quad (1)$$

где:

q – интенсивность дождя;

F – площадь водосбора;

ψ – коэффициент стока;

учитывающий тип покрытия территории.

Для оценки опасности сточных вод можно использовать показатель токсичности. Он может выражаться в различных единицах, но часто оценивается по тестам на живых организмах, например, дафниях, рыбах. Представляется в виде процента выживаемости или LC50 (концентрация, вызывающая гибель 50% тест-организмов). Однако, для простоты и обобщения иногда используют обобщенные индикаторы: низкая, средняя и высокая токсичность. Еще один способ выражения токсичности заключается в перечислении токсичных веществ. Последние два индикатора были использованы в таблице 1 для оценки токсичности бытовых, промышленных и ливневых сточных вод.

Исходя из данных, представленных в таблице 1, можно сделать вывод о том, что бытовые сточные воды обладают низкой токсичностью, но высокой органической нагрузкой, которая может быть причиной эвтрофикации водоемов. Самыми опасными являются промышленные стоки, которые содержат тяжелые металлы, фенолы, нефтепродукты и другие опасные загрязняющие вещества. Даже малые концентрации таких вод могут быть смертельны для гидробионтов, из-за чего требуют тщательной многоступенчатой очистки. Токсичность

ливневых сточных вод варьируется от низкой до высокой. Это связано с их территориальным расположением: в селитебных зонах показатель будет низким, а в промышленных и вблизи автомобильных дорог – высоким.

Таблица 1 – Основные показатели сточных вод [7]

Тип сточных вод	БПК ₅ , мг O ₂ /л	ХПК, мг O ₂ /л	Токсичность (характеристика)
Бытовые	100-400	250-800	Низкая Основные загрязнители: органика, ПАВ, азот, фосфор Биоразлагаемы на 90%
Промышленные	50-3000	200-5000	Высокая Основные загрязнители: тяжелые металлы (Pb, Cd, Hg), цианиды, фенолы, нефтепродукты
Ливневые	10-100	50-300	Переменная Основные загрязнители: нефтепродукты (0,1-10 мг/л), тяжелые металлы (Zn, Cu), микропластик Токсичность зависит от территории (в промзонах больше, чем в селитебных)

Также для удобства оценки воздействия на экосистему сточные воды можно классифицировать на изменяющие физико-химические и органолептические свойства воды, содержащие взвешенные нерастворимые примеси, которые приводят к замутнению воды и ядовитые, уничтожающие водную биоту, создавая дефицит растворенного в воде кислорода [9].

1.2 Влияние органического загрязнения на водные экосистемы

Органическое загрязнение водных экосистем, вызванное сбросом сточных вод, сельскохозяйственными стоками и промышленными отходами, приводит к комплексным негативным последствиям. Основным механизмом нарушения баланса является эвтрофикация. Этот процесс происходит вследствие насыщения водоемов биогенными элементами, такими как азот, фосфор, которые стимулируют массовое развитие фитопланктона и высшей водной растительности [2]. В результате интенсивного роста водорослей, особенно цианобактерий, поверхность воды покрывается плотным слоем, который блокирует проникновение солнечного света в нижние слои. Это подавляет фотосинтез у донных растений и приводит к деградации придонных биоценозов [7].

Разложение органических веществ в условиях избыточного загрязнения сопровождается резким снижением концентрации растворенного кислорода. При падении уровня кислорода ниже 2 мг/л при норме 5-6 мг/л наблюдается массовая гибель аэробных организмов – рыб, ракообразных и моллюсков (СанПиН 2.1.5.980-00, п. 4.2) [18]. Анаэробные процессы, замещающие окисление, приводят к накоплению токсичных продуктов, например, сероводорода (H_2S), метана (CH_4) и аммиака (NH_3). В малых реках Центральной России, подверженных сбросу органических стоков, концентрация сероводорода в донных отложениях может достигать 15-20 мг/л, что в 3-4 раза превышает ПДК.

Долгосрочное воздействие органики проявляется в нарушении пищевых цепей и снижении биоразнообразия. По данным исследований на примере Рыбинского водохранилища, в зонах постоянного загрязнения доля устойчивых к гипоксии видов, например, некоторых видов хирономид, увеличивается до 70-80%, тогда как чувствительные виды исчезают полностью [10]. Кроме того, органические загрязнители часто создают условия для накопления тяжелых металлов и ксенобиотиков, которые адсорбируются на частицах взвесей и

включаются в трофические сети, достигая высших звеньев, включая человека [13].

В 2020 году разлив неочищенных сточных вод в реку Селенга привел к гибели 12 тыс. особей байкальского омуля. Последующий анализ показал, что причиной стала комбинация факторов. Биохимическое потребление кислорода за 5 суток (БПК₅) стоков превысило 1200 мг/л при норме 3–5 мг/л для природных вод, а концентрация аммиака достигла 8 мг/л [15]. Это подтверждает, что даже кратковременное воздействие органики способно вызвать необратимые изменения в уязвимых экосистемах.

Для анализа уровня органического загрязнения сточных вод и оценки их воздействия на водные экосистемы применяются два основных показателя: биохимическое потребление кислорода (БПК₅) и химическое потребление кислорода (ХПК).

Биохимическое потребление кислорода представляет собой количество кислорода, которое расходуется микроорганизмами в процессе окисления органических веществ в течение пяти суток. Этот показатель является важным индикатором способности загрязнений к естественному биологическому разложению. Для бытовых сточных вод характерны значения БПК₅ в диапазоне 300-400 мг/л. Это объясняется преобладанием легкоразлагаемых органических соединений, таких как белки и углеводы. С экологической точки зрения, повышенные значения БПК представляют серьезную угрозу для водных экосистем, так как приводят к дефициту растворенного кислорода. Это, в свою очередь, вызывает гибель аэробных организмов и активизацию анаэробных процессов, которые сопровождаются выделением токсичных газов, включая метан и сероводород.

Химическое потребление кислорода отражает общее количество кислорода, необходимое для полного химического окисления всех органических соединений. В отличие от БПК, этот показатель учитывает не только биоразлагаемые вещества, но и трудноокисляемые соединения, такие как лигнин и ксенобиотики. В промышленных стоках, особенно в нефтехимической отрасли,

значения ХПК могут достигать 2000 мг/л из-за высокой концентрации устойчивых к биодegradации загрязнителей [9].

Соотношение БПК и ХПК играет ключевую роль в оценке степени биоразлагаемости органических загрязнений. Если значение этого соотношения составляет менее 0,5, это может свидетельствует о преобладании трудноразлагаемых соединений и необходимости применения дополнительных методов очистки, таких как адсорбция или химическое окисление. Данный подход позволяет более точно оценить характер загрязнения и выбрать оптимальные технологии для его устранения. Таким образом, комплексное использование показателей БПК₅ и ХПК дает возможность не только оценить степень органического загрязнения сточных вод, но и прогнозировать их воздействие на водные экосистемы, а также разрабатывать эффективные стратегии очистки [5].

1.3 Способы очистки сточных вод

Основным источником загрязнения водных объектов выступают недостаточно очищенные промышленные и хозяйственно-бытовые стоки. Очистка сточных вод – многоступенчатый процесс, направленный на минимизацию негативного воздействия загрязнений на окружающую среду и здоровье человека. В зависимости от состава стоков применяются три основных метода очистки: химический, физико-химический и биологический. Все они имеют свои преимущества и ограничения [14]. Выбор метода зависит от состава стоков, требуемой степени очистки и экономической целесообразности [9].

Химические методы основаны на использовании реагентов, таких как коагулянты и окислители, для нейтрализации токсичных соединений. Например, наиболее часто используемый гипохлорит натрия эффективно разлагает органические загрязнители, но требует точного дозирования. Также его использование сопровождается образованием вторичных продуктов – хлорорганических соединений.

Один из перспективных методов химической очистки, к которому в последние годы возрастает интерес – озонирование. Это окислительный метод, основанный на использовании озона, который распадается с образованием активного атомарного кислорода. Обеззараживает воду значительно эффективнее хлора, окисляет органические вещества, удаляет цветность, запахи и привкусы, не изменяя минеральный состав воды. Часто комбинируется с УФ-излучением, пероксидом водорода или активированным углем. Перспективно как предварительная ступень перед биоочисткой. Одним из главных преимуществ метода является отсутствие вторичных загрязнений. Недостаток – высокая стоимость.

Эти методы более востребованы при очистке промышленных сточных вод, особенно в машиностроении и фармацевтике, где стоки содержат высокие концентрации ксенобиотиков. Но применение химических методов очистки ограничено высокой стоимостью и экологическими рисками [4].

К числу наиболее распространенных и хорошо зарекомендовавших себя физико-химических способов относится коагуляция, часто используемая в комбинации с флокуляцией. Суть коагуляции заключается в добавлении специальных реагентов – коагулянтов, например, таких как сульфат алюминия, сульфат железа, хлорид железа, полигидроксихлорид алюминия. Они дестабилизируют коллоидные системы и мелкие взвеси, вызывая их объединение в более крупные хлопья. Флокулянты усиливают этот процесс, ускоряя образование хлопьев и улучшая качество осветленной воды. Сочетание методов позволяет эффективно удалять взвеси, фосфаты, снижать БПК и ХПК на 40-60%, а также значительную часть микробиологических загрязнений. Хотя его результативность зависит от исходных характеристик воды и требует контроля остаточного содержания ионов металлов [3].

Не менее важным методом глубокой очистки, особенно от растворенных органических соединений является сорбция. Наибольшую эффективность данный метод показывает при очистке вод от фенолов, красителей, поверхностно-активные вещества (ПАВ). Сорбция основана на способности

твердых материалов, сорбентов, извлекать загрязнения из жидкости за счет поверхностных явлений. Наибольшей эффективностью обладают активированные угли с их развитой пористой структурой. Сорбция высокоэффективна как самостоятельный метод, так и в качестве доочистки после биологической ступени, позволяя извлекать и утилизировать ценные компоненты и возвращать воду в оборотные системы.

Флотация представляет собой процесс отделения нерастворенных частиц, жиров, масел, ПАВ с помощью пузырьков газа, которые прилипают к частицам и выносят их на поверхность, образуя пенный слой. Особенно результативна она для стоков пищевой промышленности. Различают несколько видов флотации: напорную, с выделением воздуха из раствора, с механическим диспергированием воздуха и через пористые материалы. Сочетание флотации с коагуляцией и флокуляцией позволяет интенсифицировать процесс и повысить степень очистки. К преимуществам метода можно отнести высокую эффективность, непрерывность и компактность. Но данный метод может требовать дополнительные меры по утилизации флотопены и не всегда достаточно снижает БПК/ХПК.

Для концентрированных стоков, содержащих значительные количества растворенных органических веществ или тяжелых металлов, экономически оправдано применение экстракции. Этот метод основан на распределении загрязнений между сточной водой и несмешивающимся с ней экстрагентом, таким как органические растворители или водные растворы кислот, щелочей. Экстракция позволяет не только очистить воду, но и регенерировать ценные извлеченные компоненты. Ее рентабельность напрямую зависит от исходной концентрации загрязнений [3].

Ионный обмен является ключевым методом для умягчения, опреснения, деминерализации воды и извлечения ионных загрязнений, таких как тяжелые металлы, радионуклиды. Процесс происходит при пропускании воды через фильтры, заполненные ионообменными смолами (ионитами), которые способны обменивать свои ионы на ионы загрязнителей из раствора. Используются как

природные, так и синтетические иониты. Метод требует последующей регенерации смол и эффективен для стоков металлургической, химической и машиностроительной отраслей.

Помимо традиционных, активно разрабатываются и внедряются инновационные физико-химические подходы. Плазменный метод использует энергию тлеющего разряда для генерации высокоэнергетических частиц, вызывающих глубокую деструкцию молекул загрязнителей в специальных реакторах. Этот метод используют для очистки сточных вод от ПАВ, тяжелых металлов, радионуклидов, бактерий. Он демонстрирует чрезвычайно высокую степень очистки до 95-100% и перспективен для объектов с высокими требованиями к обеззараживанию, таких как АЭС.

Каталитическое мокрое окисление (КМО) – высокотемпературный процесс окисления органических загрязнений кислородом воздуха в присутствии катализатора под давлением. Технологическая схема включает смешение стоков с воздухом, нагрев в теплообменнике и печи, окисление в реакторе и сепарацию продуктов. При высокой концентрации органики процесс может быть автотермичным. Несмотря на высокую эффективность, требует значительных затрат на аппаратуру высокого давления и энергоносители.

Фотокаталитический метод использует катализаторы (обычно полупроводниковые материалы или соли железа) и световую энергию, преимущественно солнечный свет, для разложения устойчивых органических загрязнителей, таких как пестициды. Разрабатываются как установки для накопительных резервуаров, так и проточные реакторы, часто с добавлением окислителей.

Большинство физико-химических методов не обеспечивает полной минерализации органики, после их применения требуется доочистка [5]. Также в процессе очистки этими методами могут образовываться шламы, требующие утилизации.

Биологические методы очистки сточных вод основаны на способности микроорганизмов метаболизировать органику в безопасные продукты, такие как

углекислый газ, вода, биомасса. Основой процесса служит активный ил, представляющий собой сообщество бактерий, грибов и простейших, которые формируют трофические сети. Например, бактерии рода *Nitrosomonas* успешно окисляют аммиак, а инфузории *Colpidium* регулируют их численность, предотвращая избыточное накопление биомассы [14]. Данный метод имеет ряд существенных недостатков, таких как энергозатратность (аэрация требует 0,5-1,5 кВт·ч/м³) [4]. чувствительность к токсикантам (аммиак, тяжелые металлы) и неспособность разлагать сложные соединения, такие как лигнин и целлюлоза.

Для того, чтобы выявить наиболее энергоэффективный и более доступный по стоимости метод очистки сточных вод от органических загрязнений, составили сводную таблицу 2, в которой учли такие параметры как эффективность очистки, стоимость, энергозатратность и основные недостатки.

Таблица 2 – Сравнительный анализ методов очистки сточных вод [3, 4, 9]

Метод очистки	Категория	Эффективность (БПК, ХПК)	Стоимость	Энергозатратность	Основные недостатки
Гипохлорит натрия	Химический	30-70% (ХПК)	Низкая	Низкая-Средняя	Токсичные хлорорганические соединения (АОХ)
Озонирование	Химический	50-90% (ХПК)	Высокая	Высокая	Побочные продукты (броматы, альдегиды)
Персульфат натрия	Химический	60-95% (ХПК)	Средняя-Высокая	Средняя-Высокая	Требуется активации (УФ, тепло, металлы)
Коагуляция/Флокуляция	Физ-хим.	20-60% (ХПК)	Низкая-Средняя	Низкая-Средняя	Большой объем шлама
Флотация	Физ-хим.	30-70% (ХПК)	Средняя	Средняя	Эффективна только для взвесей/масел
Сорбция (акт. уголь)	Физ-хим.	50-95% (ХПК)	Средняя-Высокая	Низкая	Замена/регенерация сорбента
Ионный обмен	Физ-хим.	<30% (ХПК)	Средняя-Высокая	Низкая-Средняя	Неэффективен для нейтральной органики

Продолжение таблицы 2

Метод очистки	Категория	Эффективность (БПК, ХПК)	Стоимость	Энергозатратность	Основные недостатки
Каталитическое мокрое окисление (CWO)	Физ-хим.	70-99% (ХПК)	Очень высокая	Очень высокая	Высокие Т/Р, коррозия
Фотокатализ (TiO ₂ /УФ)	Физ-хим.	50-90% (ХПК)	Средняя-Высокая	Средняя-Высокая	Медленная скорость, зависимость от УФ
Плазменный метод	Физ-хим.	60-95% (ХПК)	Очень высокая	Очень высокая	Сложность масштабирования
Аэротенки	Биологический	90-95% (БПК), 70-90% (ХПК)	Средняя	Высокая	Образование избыточного ила
Биопруды	Биологический	70-85% (БПК), 50-70% (ХПК)	Низкая	Очень низкая	Требуют больших площадей
Фиторемедиация	Биологический	40-80% (БПК/ХПК)	Низкая	Очень низкая	Сезонность, медленная скорость
Анаэробная очистка	Биологический	70-90% (БПК), 60-85% (ХПК)	Низкая-Средняя	Низкая	Чувствительность к токсинам

Данные представлены в сокращенном виде, развернутая версия таблицы 2 представлена в приложении А.

В результате поиска наиболее эффективного и доступного по стоимости метода очистки сточных вод было выявлено, что в соотношении цена-качество лучшим является применение аэротенков. Их эффективность в деструкции биоразлагаемой органики (БПК₅) составляет 90-95%, общей органики (ХПК) – 70-90%.

Несмотря на эффективность, аэротенки, используемые для биологической очистки, практически исчерпали потенциал для повышения эффективности и оптимизации процессов [4]. Их работа зависит от постоянной аэрации, что неприменимо в естественных условиях. Это стимулирует поиск альтернатив, таких как природоподобные технологии (биопруды, фиторемедиация), где

очистка происходит за счет аутохтонных сообществ, а также устойчивые биоценозы на основе грибов и водорослей, адаптированные к анаэробным условиям. Главными преимуществами метода являются низкие эксплуатационные затраты и устойчивость к колебаниям нагрузки [23].

В отличие от бактерий, эукариоты способны разлагать трудноокисляемые вещества, например, такие как лигнин, целлюлоза, и функционировать в условиях дефицита кислорода. Например, грибы *Phanerochaete chrysosporium* разрушают фенолы, а инфузории *Tetrahymena* утилизируют белки, снижая БПК на 25–40% [26]. Инфузории рода *Stylonychia* регулируют бактериальные популяции, предотвращая резкие повышения БПК [18].

Биологические методы, особенно с участием эукариотических сообществ, наиболее перспективны для очистки в естественных условиях. Их преимуществами являются способность к саморегуляции, деградация сложных загрязнителей и адаптация к токсикантам, что подтверждается данными нашего эксперимента.

2. Методы исследования

2.1 Приготовление модельного загрязнителя

Водные экосистемы, подверженные антропогенному воздействию, часто содержат комплексные загрязнения, среди которых органические вещества (белки, жиры, углеводы) и азотистые соединения (аммиак, нитраты) играют ключевую роль. В качестве загрязняющих веществ для моделирования процесса очистки сточных вод эукариотическими микроорганизмами были выбраны говяжий бульон и раствор аммиака.

Говяжий бульон был выбран в качестве модельного органического загрязнителя, имитирующего состав сточных вод пищевой промышленности, животноводческих комплексов и бытовых стоков. Сложные белковые структуры и липиды бульона требуют последовательного гидролиза ферментами микроорганизмов, таких как протеазы, липазы, что позволяет оценить их способность к многостадийной деградации органики.

Для приготовления говяжьего бульона мы использовали говяжью вырезку высшего сорта (категория А). Согласно маркировке продукта в 100 г взятой для эксперимента говядины содержатся 17,0 г белка, 6,2 г жира и менее 0,0 г углеводов.

Вначале взвесили 10 г мяса и поместили в 1 литр предварительно прокипяченной деионизированной воды. Это исключило влияние посторонних ионов на процесс экстракции. Количество взятой для приготовления бульона говядины (10 г/л) обеспечило оптимальную нагрузку, достаточную для стимуляции микробной активности, но не вызывающую полного подавления сообществ из-за токсичности продуктов распада.

Смесь довели до кипения, затем кипятили еще 30 минут. Полученному раствору дали немного остыть, а затем отфильтровали от крупных частиц с помощью стерильного нетканого бинта. С целью сохранения стерильности приготовленного бульона и удобства транспортировки, его перелили в

предварительно очищенную темную стеклянную бутылку объемом 1 литр с закручивающейся крышкой (рисунок 1).



Рисунок 1 – Модельный загрязнитель – бульон

Аммиак ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) является ключевым продуктом анаэробного разложения азотсодержащей органики, например, белков, мочевины, и типичным компонентом сточных вод животноводческих комплексов, канализационных стоков и пищевой промышленности. Включение аммиака в модельную систему позволило нам приблизиться к реальным условиям, так как в природных и техногенных водоемах органическое загрязнение редко существует изолированно. Аммиак, накапливаясь в процессе микробной деструкции, создает токсичную среду для гидробионтов и ингибирует активность части микроорганизмов. Добавление аммиака в низких концентрациях (0,1 и 0,5 мг/л) позволило воспроизвести комплексное воздействие, которое характерно для реальных стоков.

Раствор аммиака готовили в лабораторных условиях из 10% нашатырного спирта. Для того, чтобы добиться низкой концентрации в испытуемых пробах,

приготовили маточный раствор. Для этого 1 каплю разбавили в 50 мл дистиллированной воды. Концентрация маточного раствора составила 96 мг/л.

Хотя прямое измерение количества аммиака в эксперименте не проводилось, его воздействие было оценено через динамику перманганатной окисляемости. Замедление снижения окисляемости в пробах с аммиаком могло указывать на угнетение деструктивной активности микроорганизмов.

Сочетание говяжьего бульона и аммиака позволило нам смоделировать сукцессионные процессы, характерные для водоемов с постоянным органическим загрязнением, так как фаза интенсивного разложения белков приводит к накоплению аммиака, а адаптация микроорганизмов к токсичности способствует селекции устойчивых видов.

2.2 Подготовка опытных групп и запуск эксперимента

Исследование включало 4 опытные группы, подготовленные в лабораторных условиях (рисунок 2).

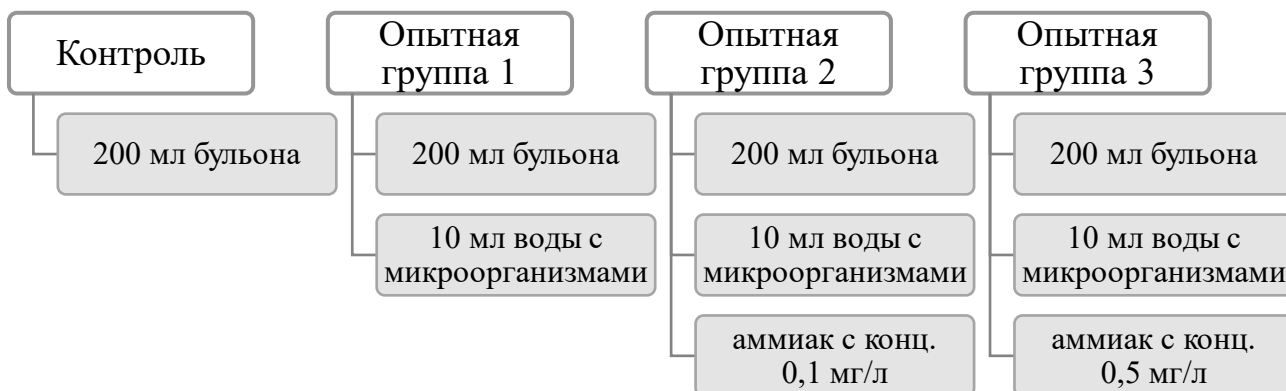


Рисунок 2 – Схема подготовки опытных групп

Мерные стаканы объемом 250 мл тщательно промыли водопроводной водой, затем трехкратно сполоснули дистиллированной. Говяжий бульон готовили за сутки до запуска эксперимента. Маточный раствор аммиака готовили

непосредственно перед внесением его в опытные группы. Далее начали подготовку опытных групп:

- Контрольная группа: 200 мл модельного загрязнителя (говяжий бульон);
- Опытная группа 1: Во второй стакан внесли 200 мл бульона и добавили 10 мл аквариумной воды, содержащей микроорганизмы;
- Опытная группа 2: В третий стакан добавили 200 мл бульона, внесли 10 мл аквариумной воды и 2,1 мл маточного раствора аммиака, доведя его концентрацию до 0,1 мг/л;
- Опытная группа 3: В четвертый стакан к 200 мл бульона добавили 10 мл аквариумной воды и маточный раствор аммиака объемом 10,4 мл, достигнув концентрации 0,5 мг/л.

Все стаканы промаркировали тканевым пластырем и нанесенными ручкой обозначениями: K1, 1, 2, 3 (рисунок 3). Каждый стакан закрыли стерильными салфетками и поместили в термостат ТВ-12 для поддержания температуры +25°C (рисунок 4). Колебания температуры не превышали $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

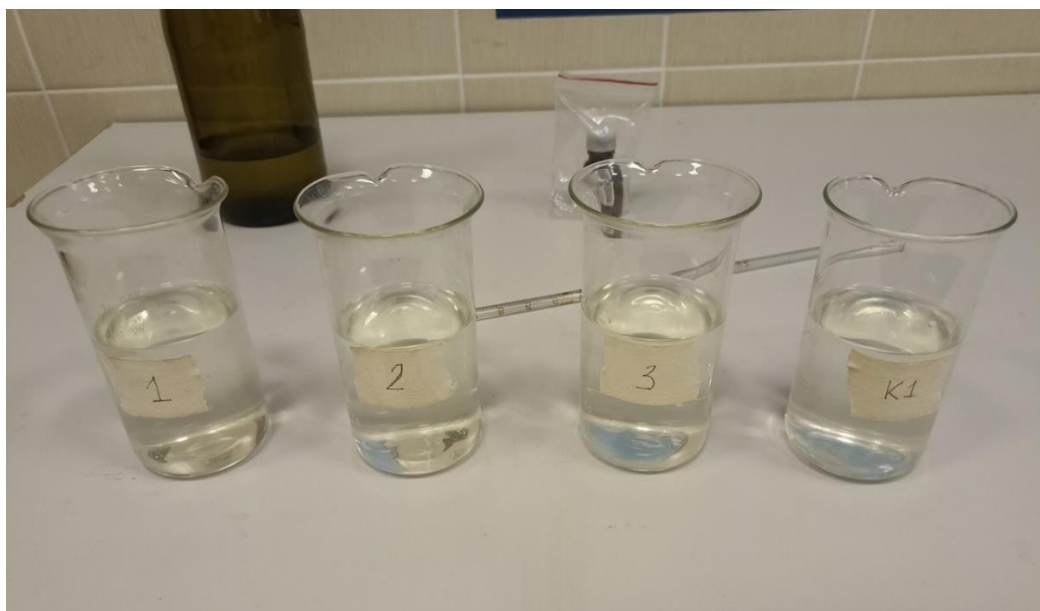


Рисунок 3 – Контрольная и опытные группы



Рисунок 4 – Опытные группы в термостате

Состояние проб документировали еженедельно с помощью фотографий, а также проводили визуальную оценку состояния, учитывая такие характеристики как турбидность (мутность), цвет, наличие пленок.

Такой дизайн эксперимента отражает комплексный характер загрязнения и подчеркивает необходимость изучения аутохтонных сообществ в условиях, приближенных к природным.

2.3 Методика определения количества органических веществ

Количество органических веществ в мясном бульоне и испытуемых пробах определяли методом перманганатной окисляемости. Данный метод регламентирован ГОСТ Р 55684-2013 «Вода. Методы определения перманганатной окисляемости», что подтверждает корректность выбранного подхода для анализа биоразлагаемых веществ [6].

Для определения органики из экспериментальных групп отбирали по 20 мл раствора, затем данный объем пропускали через бумажный фильтр с целью очистки от взвесей и исключения влияния микроорганизмов, внесенных в пробы, на количество органических веществ. Ввиду ограниченного диапазона выбранного нами метода измерений бульон разбавили дистиллированной водой 1:4 и взяли аликвоту 10 мл.

Метод перманганатной окисляемости основан на окислении органических и неорганических веществ, присутствующих в пробе воды, известным количеством перманганата калия в сернокислой среде при кипячении в течение 10 минут. Не вошедший в реакцию перманганат калия восстанавливают тиосульфатом натрия.

1) Определение поправочного коэффициента к нормальности тиосульфата натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

В коническую колбу на 200 мл отобрать калиброванной пипеткой 20 мл раствора бихромата калия (0,02 н), мерным цилиндром – 5 мл серной кислоты (1:4) и 10 мл 10 % раствора йодида калия. Добавить 40-50 мл дистиллированной воды. Раствор титровать тиосульфатом натрия до слабожелтого цвета, затем добавить 1 мл крахмала 0,5 % и снова титровать до исчезновения синей окраски.

Расчет результата производится по формуле 2.

$$K = \frac{V_{K_2Cr_2O_7}}{V_{Na_2S_2O_3}}, \quad (2)$$

где:

$V_{K_2Cr_2O_7}$ – объем бихромата калия, мл;

$V_{Na_2S_2O_3}$ – объем тиосульфата натрия, пошедшего на титрование, мл.

2) Определение соотношения растворов перманганата калия и тиосульфата натрия.

В коническую колбу прилить мерным цилиндром 100 мл дистиллированной воды, 5 мл 10 % раствора йодида калия, 2 мл раствора серной

кислоты (1:4). Калиброванной пипеткой отобрать 10 мл 0,02 н раствора перманганата калия. Перемешать и титровать выделившийся йод 0,02 н раствором тиосульфата натрия до слабожелтого цвета. Затем добавить 1 мл крахмала и титровать до обесцвечивания от одной капли тиосульфата натрия. Через 30 секунд снять отсчет по бюретке с точностью до 0,1 мл. Определение провести дважды и, если разница в отсчетах не превышает 0,5 мл, взять среднее и записать найденное соотношение.

3) Определение окисляемости

В чистую коническую колбу отмерить пипеткой 50 мл пробы и калиброванной пипеткой 10 мл 0,02 н раствора перманганата калия, закрыть колбу пробкой-холодильником, заполненной водой до половины, поставить колбу на электроплиту. Отметить момент закипания и кипятить ровно 10 минут. Кипение должно быть ровным, без толчков. После кипячения охладить раствор до комнатной температуры в кристаллизаторе с водопроводной водой (10 минут). Затем в колбу добавить 5 мл раствора йодида калия и 5 мл серной кислоты (1:4). Перемешать и сразу титровать выделившийся йод раствором тиосульфата натрия, как при определении соотношения между рабочими растворами реактивов. Взять отсчет по бюретке.

Во время кипячения и охлаждения проба должна сохранять цвет избытка перманганата (сине-фиолетовый). Если цвет изменился на бурый, это свидетельствует о повышенном содержании органики. В этом случае следует повторить определение, взяв меньший объем пробы (50, 25 или 10 мл) и разбавив ее дистиллированной водой до 100 мл.

Вычисление результатов проводится по формуле 3:

$$\text{Окисляемость мг/л} = \frac{8 \cdot (a-b) \cdot K \cdot N \cdot 1000}{V}, \quad (3)$$

где:

8 – эквивалентная масса кислорода;

а – объем раствора тиосульфата (с поправкой на бюретку) при установлении соотношения растворов перманганата калия и тиосульфата натрия;

б – расход раствора тиосульфата натрия (с поправкой на бюретку) на титрование остатка перманганата калия после кипячения;

К – поправочный коэффициент нормальности тиосульфата натрия;

N – нормальность раствора тиосульфата натрия;

V – объем взятой пробы.

2.4 Оценка состояния биоты в эксперименте

Представители эукариотических микроорганизмов были отобраны нами из аквариума с организмами *Poecilia reticulata* и *Procambarus* sp. Данное решение было принято нами не случайно, так как аквариум представляет собой стабильную искусственную экосистему. В ней сформировались аутохтонные сообщества микроорганизмов, адаптированные к условиям умеренной органической нагрузки, наличию азотистых соединений (аммиак, нитраты) и колебаниям кислородного режима, кислотности и температуры. Отбор 10 мл воды из такой системы обеспечил репрезентативность биоразнообразия. В аквариумной воде присутствуют разнообразные эукариотические организмы, бактерии и микроводоросли, участвующие в круговороте органики и биогенных элементов. Это соответствует составу природных водоемов с умеренным антропогенным воздействием [27].

Использование аутохтонных сообществ исключает необходимость искусственного культивирования штаммов, что позволяет изучать процессы самоочищения в условиях, максимально приближенных к природным.

Объем аквариумной воды с микроорганизмами был выбран на основе предварительных исследований, подтвердивших, что плотность микроорганизмов в аквариумной воде достаточна для запуска деструкции органики без риска перенасыщения системы.

Аквариумные сообщества воспроизводят механизмы саморегуляции водоемов. Например, инфузории (*Paramecium* sp, *Colpidium* sp) контролируют численность бактерий, амебы (*Amoeba proteus*) утилизируют органические частицы, водоросли (*Chlorella* sp) поддерживают кислородный баланс. Аквариум как закрытая система минимизирует влияние внешних факторов, например, сезонных колебаний, повышая воспроизводимость данных.

Микроорганизмы, адаптированные к фоновым концентрациям аммиака (0,1-0,3 мг/л) в аквариуме, позволили изучить их реакцию на дополнительную нагрузку, в нашем случае представляющую собой введенные 0,1 и 0,5 мг/л раствора аммиака.

Процесс микроскопического исследования микробных сообществ начинался с тщательной подготовки предметных стёкол. Использовались стандартные предметные стёкла размером 75×25 мм и покровные – 25×25 мм. Перед каждым анализом их последовательно очищали: сначала промывали в дистиллированной воде, затем протирали 70% этанолом для обезжиривания поверхности. Эта процедура обеспечила не только стерильность, но и равномерное распределение исследуемых образцов.

Далее, с помощью стерильной одноразовой пипетки наносили одну каплю исследуемого образца в центр предметного стекла. Ключевым условием было соблюдение объёма жидкости – он подбирался таким образом, чтобы при наложении покровного стекла не возникало избыточного вытекания по краям. Для этого визуально контролировали, чтобы капля не превышала 3-4 мм в диаметре. Покровное стекло толщиной 0,15 мм аккуратно опускали под углом 45° к поверхности предметного стекла, плавно продвигая его до полного соприкосновения. Такой подход полностью исключал формирование воздушных пузырей, способных исказить подсчёт организмов.

Микроскопирование проводили с использованием светового микроскопа ЛОМО Микмед-5, оснащённого объективами ×4 (апертура 0,10) и ×10 (апертура 0,25). Анализ всегда начинали с меньшего увеличения (×4), чтобы локализовать участки с максимальной плотностью микроорганизмов. Затем

переключались на объектив $\times 10$ для детального изучения. При каждом увеличении последовательно просматривали 10 случайно выбранных полей зрения, перемещая препарат по зигзагообразной траектории – от левого верхнего угла к правому нижнему. Это гарантировало репрезентативность выборки и охват всех зон препарата. Найденные организмы идентифицировали визуально по определителю пресноводных беспозвоночных [13].

Пересчёт численности найденных микроорганизмов на 1 мл пробы выполняли в программе Excel. Сначала вычисляли площадь поля зрения микроскопа ($A_{пз}$) через диаметр диафрагмы окуляра ($d=18$ мм) и увеличение для объектива.

Для увеличения в 4 раза (формула 4):

$$A_{пз} = \pi \cdot \frac{(18/2)^2}{4} = 63.62 \text{ мм}^2 \quad (4)$$

Для увеличения в 10 раз (формула 5):

$$A_{пз} = \pi \cdot \frac{(18/2)^2}{10} = 25.45 \text{ мм}^2 \quad (5)$$

Средняя численность организмов в поле зрения определялась как (формула 6):

$$\bar{N} = \frac{\sum_{i=1}^m N_i}{m}, \quad (6)$$

где:

$\bar{N}$ – среднее количество организмов в полях зрений;

N_i – количество организмов в i -м поле зрения,

m – число просмотренных полей.

Затем применяли универсальную формулу (7) для пересчета количества микроорганизмов в полях зрений на количество в 1 мл пробы:

$$C \text{ (экз/мл)} = \frac{\bar{N}}{\text{ППЗ}} \cdot \frac{S_{\text{ст}}}{0,3}, \quad (7)$$

где:

C – концентрация организмов в 1 мл;

$\bar{N}$ – среднее количество организмов в полях зрений;

$S_{\text{ст}}$ – площадь стекла 25×25 , равная 625 мм^2 ;

$0,3$ – эмпирический коэффициент, учитывающий объём пробы под покровным стеклом ($0,3 \text{ мл на см}^2$).

Пример расчета для *Bodo* sp. в стакане контрольной группы за 17.04.2025:

Среднее число в 10 полях зрений при увеличении в 10 раз: 69,4 экз.

$$C = \frac{52,9}{25,45} \cdot \frac{625}{0,3} = 4\,330,91 \text{ экз/мл},$$

Для минимизации субъективной ошибки каждый препарат анализировали дважды. Расхождение в полученных результатах не превышало 12%, что считается приемлемым для визуальных методов.

Ограничения методики:

1. Не учитывались организмы размером $< 5 \text{ мкм}$ (мелкие бактерии);
2. Агрегация клеток в некоторых пробах могла приводить к занижению численности на 15-20%;

Упрощённая формула пересчёта основана на принципах, изложенных в руководстве по методам гидробиологического анализа [1]. Данный подход обеспечил сопоставимость результатов с ГОСТ 34786-2021 и позволил достоверно отследить сукцессионные изменения в эксперименте.

3. Результаты исследования

3.1 Динамика микробиологических показателей в ходе эксперимента

Перед запуском эксперимента был проведен предварительный микроскопический анализ аквариумной воды (таблица 3, рисунок 5). Это было необходимо для того, чтобы убедиться в присутствии организмов, способных разрушать сложную органику и понять, в каком соотношении они находятся.

Таблица 3 – Видовой состав аутохтонного сообщества аквариума

Вид	Количество экземпляров в 1 мл
Голая емеба (<i>Amoeba</i> sp.)	109,16
Инфузория (<i>Colpidium</i> sp.)	136,45
Эвглена (<i>Euglena</i> sp.)	27,29
Инфузория (<i>Ciliophora</i> gen. sp.)	109,16
Нематода (<i>Nematoda</i> gen. sp.)	27,29
Раковинная амeba (<i>Arcellinida</i> gen. sp.)	136,45

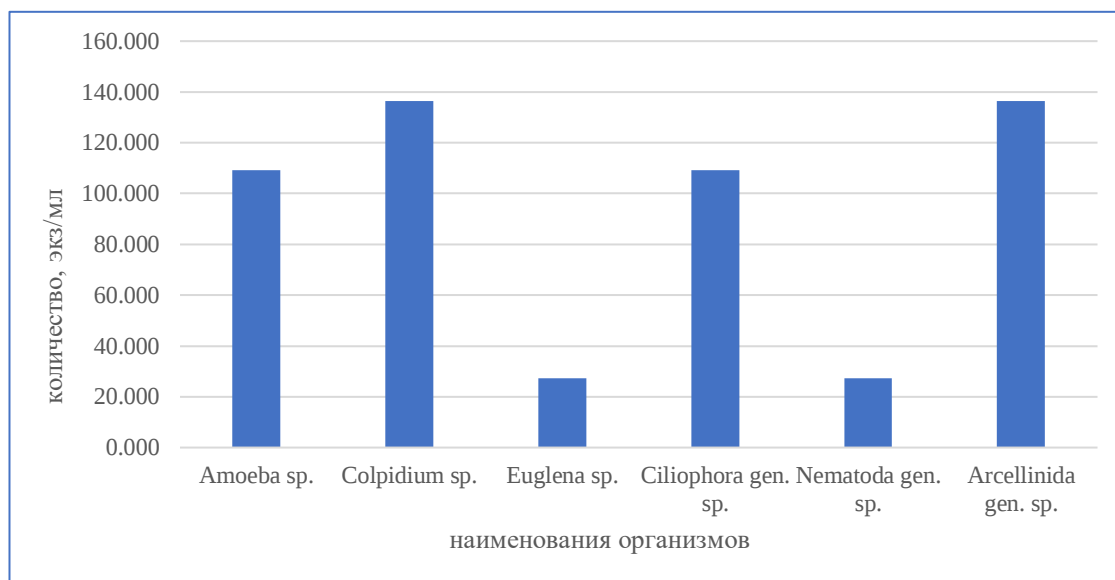


Рисунок 5 – Видовой состав аутохтонного сообщества аквариума, 10.04.2025 г.

Через неделю после запуска опыта, 17 апреля 2025 года, в результате микроскопического анализа было выявлено доминирование гетеротрофных

жгутиконосцев *Bodo* sp., относящихся к эукариотам. Предполагается, что их присутствие в контрольном образце связано со способностью данных эукариот к образованию покоящихся форм. Цисты *Bodo* sp., скорее всего, изначально присутствовали в говядине и развились в благоприятной среде. Количество *Bodo* sp. в контроле составило 4330,91 экз/мл.

Также наблюдалось большое количество бактериальных колоний (*Bacillus* sp.) – 1375,41 кол/мл. Появление и рост численности бактерий связаны с отсутствием инфузорий-хищников.

В опытном образце 1 установлено преобладание мелких инфузорий *Ciliophora* gen, sp., количество которых составило 163,74 экз/мл. Также наблюдалось большое количество инфузорий рода *Stylonychia* – 117,22 экз/мл. Было замечено появление гиф грибов, что свидетельствовало о начале сукцессионного перехода к сообществу-деструктору сложной органики. Количество бактериальных колоний составило 73,68 кол/мл, что в 14 раз меньше, чем в контрольной группе.

В опытной группе 2 с добавлением аммиака в концентрации 0,1 мг/л численность инфузорий *Stylonychia* sp. составила 92,10 экз/мл, меньше, чем в опытном образце 1 без аммиака. Подавление бактерий, количество которых составило 65,50 экз/мл, и сохранение инфузорий указывало на частичную адаптацию к токсичности аммиака.

В экспериментальном образце 3 с добавлением аммиака в концентрации 0,5 мг/л численность *Stylonychia* sp. (103,70 экз/мл) была схожей с опытной группой 2. Замечена высокая бактериальная нагрузка, ввиду появления в исследуемом образце палочковидных бактерий и *Bacillus* sp. Общее количество бактерий в образце составило 259,25 кол./мл, что в четыре раза меньше, чем в контроле. Высокая бактериальная нагрузка при сохранении инфузорий демонстрирует токсический стресс, но не полное подавление эукариот.

Визуально все растворы проявляли турбидность, были замечены бактериальные пленки. Стаканы с аммиаком (2 и 3) выделялись большей

прозрачностью, что коррелировало с подавлением микробного роста в сравнении с контролем (рисунок 6).



Рисунок 6 – Визуальная оценка, 17.04.2025

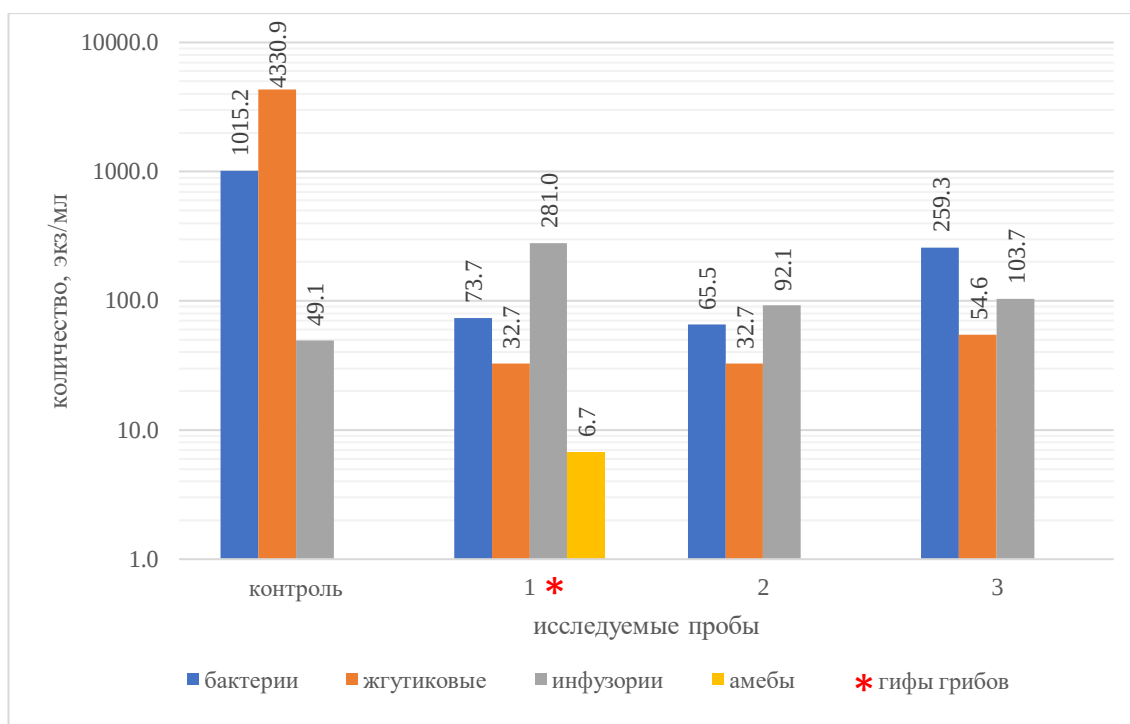


Рисунок 7 – Количественное соотношение микроорганизмов в исследуемых пробах, экз/мл, 17.04.2025

На основе изложенной выше информации, можно сделать выводы о начальных сукцессионных изменениях в испытываемых пробах. Наблюдаемая

динамика в экспериментальных системах отражает классические закономерности экологической последовательности, адаптированной к условиям органического загрязнения. В контрольной группе, лишенной аутохтонного сообщества, процесс деструкции носил линейный характер с доминированием жгутиконосцев *Bodo* sp., численность которых достигла максимума к 7-му дню. Их стремительное размножение объясняется r-стратегией ввиду высокой скорости деления и способности утилизировать легкодоступные органические соединения.

Спустя две недели, 24 апреля 2025 г., в контрольном образце было зарегистрировано отсутствие организмов. В опытных группах (стаканы 1-3) качественная трансформация сообществ выразилась в доминировании инфузорий рода *Stylonychia*. В опытной группе 1 численность *Stylonychia* sp. достигла 196,49 экз/мл при сокращении бактериальных колоний.

В исследуемых пробах с аммиаком 2 и 3 зафиксирован экспоненциальный рост инфузорий до 360,23 и 573,09 экз/мл, соответственно. Это, предположительно, связано с адаптацией микроорганизмов к аммиаку и переключением трофической стратегии на потребление бактерий.

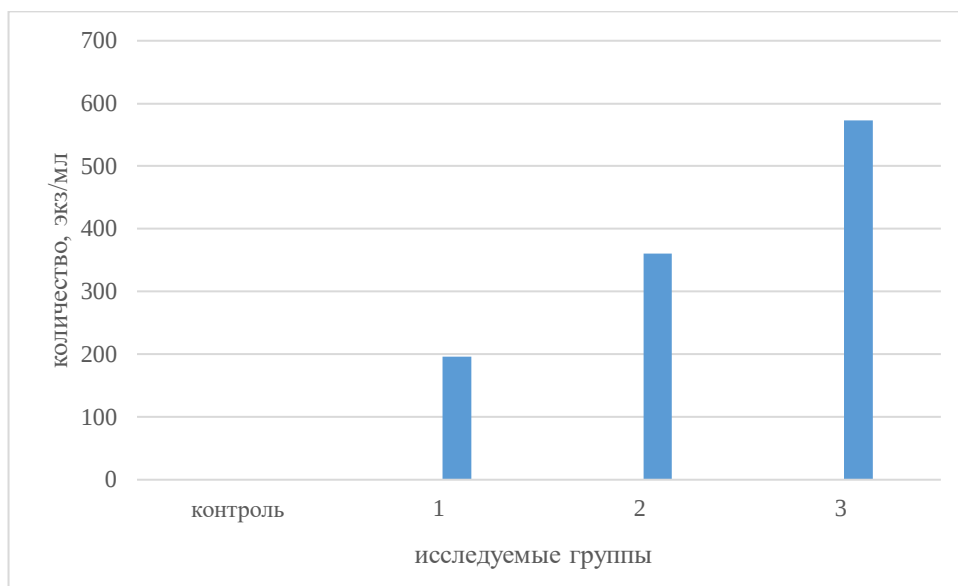


Рисунок 8 – Численность инфузорий в исследуемых пробах, 24.04.2025

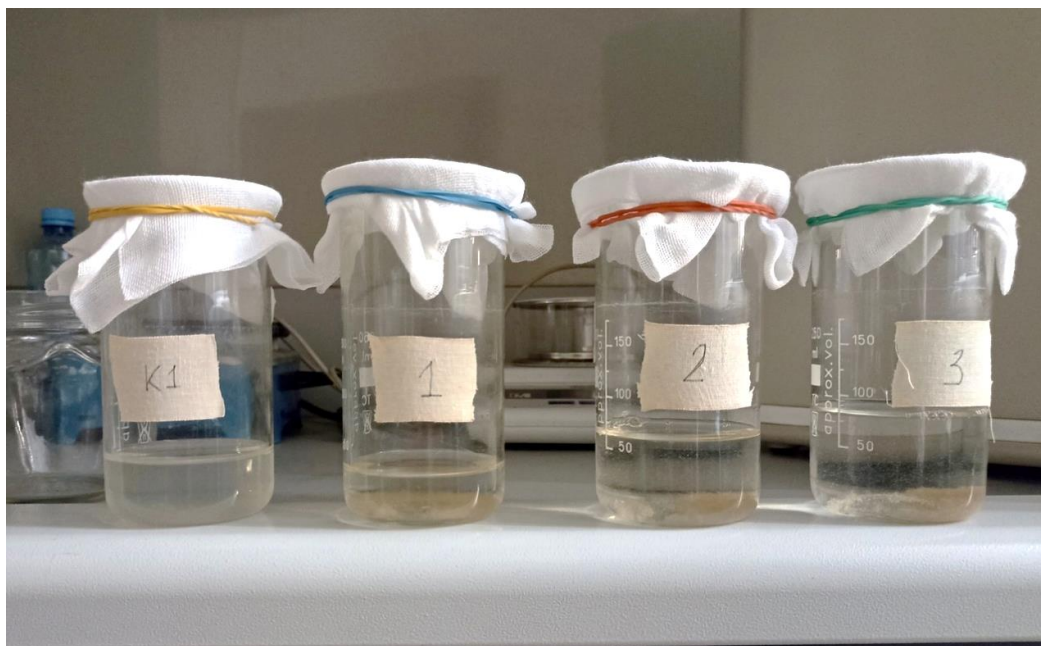


Рисунок 9 – Вид экспериментальных емкостей, 24.04.2025

Также опытные образцы изменились визуально. Наблюдалась седиментация бактериальных биопленок на дно стаканов, и увеличилась мутность из-за массового размножения инфузорий (рисунок 9).

Зафиксированный коллапс сообщества в контроле – полное исчезновение организмов, сопровождавшееся ростом перманганатной окисляемости (с 12,8 до 17,3 мг/л) связано с переходом системы в анаэробное состояние. Это может быть подтверждено визуальными признаками: появлением бактериальных пленок и резким снижением турбидности за счет седиментации неразложившихся частиц.

В опытных группах сукцессия протекала по более сложному сценарию, демонстрируя этапность, характерную для устойчивых экосистем. На первой фазе (0-7 дней) наблюдалось конкурентное взаимодействие между *Bodo* sp. и бактериями (*Bacillus* sp.), но уже к 5-му дню в системе появились инфузории *Ciliophora* gen. и *Stylonychia* sp., что привело к перераспределению трофических ролей. Инфузории, будущие К-стратегами, начали контролировать численность бактерий и жгутиконосцев, формируя замкнутый цикл деструкции.

Ключевым моментом стало появление гиф грибов в опытной группе без добавления аммиака на 7-й день, что указывает на переход к утилизации трудноразлагаемых фракций (белков, липидов) за счет внеклеточного ферментного аппарата.

Интересно, что в группах с аммиаком (0.1 и 0.5 мг/л) сукцессия ускорилась: к 14-му дню инфузории *Stylonychia* sp. стали абсолютными доминантами (573,09 экз/мл при 0,5 мг/л), полностью вытеснив *Bodo* sp. и снизив бактериальную нагрузку. Это противоречит классическим представлениям о токсичности аммиака. Можем предположить наличие у инфузорий адаптивных механизмов. Например, они могли образовать симбиотические связи с бактериями-редуцентами, утилизирующими азот. Также есть вероятность в изменениях пищевого поведения инфузорий – перехода на бактериофагию как основной источник энергии.

Финальная стадия сукцессии (15-20 дни) характеризовалась стабилизацией сообщества с доминированием *Stylonychia* sp., что коррелировало с максимальной очисткой (органика 5,8 мг/л). Турбидность проб в этих группах временно возрастала из-за высокой численности инфузорий. Но это, скорее всего, отражало не накопление загрязнений, а активность деструкторов.

Важно отметить, что в отличие от аэротенков, где доминируют бактерии, наблюдаемая эукариотная система не требовала аэрации и сохраняла стабильность даже при нагрузке раствором аммиака, что подтверждает гипотезу исследования.

3.2 Анализ интенсивности биологической очистки и роли эукариотного сообщества

Перед запуском эксперимента, 10 апреля 2025 года, была измерена исходная концентрация органического загрязнителя – бульона – методом перманганатной окисляемости, которая составила 31,2 мг/л. Это значение является исходной концентрацией органики в пробах.

Дальнейшие проведенные исследования выявили четкую взаимосвязь между динамикой микробного сообщества и эффективностью очистки. Это особенно наглядно проявляется при сопоставлении данных перманганатной окисляемости и результатов микроскопического анализа. Особый интерес для

нас представляет контраст между контрольной группой и опытными, где наблюдались принципиально разные пути развития биоценозов.

В контрольной группе к 17.04.2025 сформировалось сообщество с абсолютным доминированием *Bodo* sp. (4330,91 экз/мл) что сопровождалось снижением перманганатной окисляемости с 31,2 до 12,8 мг/л. Данный прирост биомассы жгутиконосцев скорее всего был обусловлен накоплением продуктов неполной деградации органики при отсутствии функционального микробного сообщества. Микроскопия подтвердила исчезновение организмов в контрольном образце. Последующий рост показателя до 17,3 мг/л к 30.04.2025, совпавший с полным исчезновением организмов, может свидетельствовать о принципиальном ограничении таких сообществ. *Bodo* sp., будучи эукариотами, способны быстро утилизировать легкодоступные органические соединения, но не обеспечивают полной минерализации структур. Это подтвердилось визуальными наблюдениями – сохраняющейся мутностью и пленками.

В опытных группах наблюдалась иная картина. Уже к 17 апреля здесь установилось сбалансированное сообщество с участием инфузорий (мелких инфузорий *Ciliophora* gen. – 163,74 экз/мл и *Stylonychia* sp. – 117,22 экз/мл) при значительно меньшей численности *Bodo* sp. Это сопровождалось более успешным снижением окисляемости (до 6,4 мг/л). При этом в образцах сформировалась устойчивая система, где инфузории эффективно контролировали как бактериальную популяцию, так и численность жгутиконосцев.

Неожиданной оказалась реакция на присутствие аммиака. В группе с 0,5 мг/л аммиака к 24.04 наблюдался экспоненциальный рост *Stylonychia* sp. до 573,09 экз/мл, практически полное вытеснение *Bodo* sp. и максимальное снижение окисляемости (5,8 мг/л).

Через 20 суток после запуска эксперимента, 30 апреля 2025 г., было произведено заключительное определение перманганатной окисляемости в пробах. В контрольной группе количество органики достигло 17,3 мг/л. Прирост

на 12,3% за 6 дней подтверждает, что для эффективной минерализации требуется участие микробных сообществ.

В опытной группе 1 количество органических веществ увеличилось до 11,5 мг/л, что связано с истощением ресурсов и отмиранием части сообщества.

Опытные группы 2 и 3 продемонстрировали эффективную очистку от органики особенно при высокой дозе аммиака, где *Stylonychia* sp. полностью подавили бактерии. Итоговая концентрация органических веществ составила 5,8 мг/л.

Таблица 4 – Даты измерений количества органических веществ в экспериментальных группах

Дата измерения	Количество органических веществ, мг/л			
	Контроль	Опытная группа 1	Опытная группа 2	Опытная группа 3
17.04.2025	12,8	6,4	6,4	6,4
24.04.2025	15,4	7,7	7,7	7,7
30.04.2025	17,3	11,5	5,8	5,8



Рисунок 10 – Динамика деструкции органических веществ в экспериментальных пробах с 10.04.2025 по 30.04.2025

Stylonychia sp. проявили устойчивость к аммиаку (0,5 мг/л), используя бактерии в качестве ресурса. Их численность выросла на 42% к 24.04, обеспечив снижение органики на 81,4% за 20 дней. Низкие дозы аммиака (0,2–0,5 мг/л) изначально подавляли эукариот, но к завершению эксперимента стимулировали очистку, ускоряя сукцессию от бактерий к инфузориям.

Данные подтверждают, что аутохтонные эукариоты (инфузии рода *Stylonychia*, амёбы) способны эффективно деструктировать органику даже при сочетании таких стрессовых факторов, как токсичность аммиака и нагрузка белками, что перспективно для природных систем очистки (таблица 4, рисунок 10).

Результаты определения перманганатной окисляемости демонстрируют прямую зависимость эффективности деструкции органики от структуры микробного сообщества и динамики сукцессии

Исходя из этого можно сделать вывод о том, что *Bodo* sp., несмотря на свою численность, менее эффективны в полной минерализации органики по сравнению с инфузориями. Сложные эукариотические сообщества, с доминированием *Stylonychia* sp., демонстрируют более устойчивую и эффективную деструкционную активность. А аммиак в умеренных концентрациях выступает как селективный фактор, стимулируя развитие именно тех эукариот, которые обеспечивают наиболее полную очистку.

Полученные результаты меняют традиционное представление о роли эукариот в процессах самоочищения. Если *Bodo* sp. можно рассматривать как «пионерный вид» при первичном заселении загрязненной воды, то инфузии, особенно *Stylonychia* sp. выступают ключевыми агентами завершающих стадий очистки. Это открывает перспективы для разработки новых подходов к биоремедиации, основанных на управлении сукцессионными процессами в микробных сообществах.

Заключение

Проведенное экспериментальное исследование убедительно доказало высокий потенциал аутохтонных эукариотических сообществ для биологической очистки сточных вод от органических загрязнений, включая условия токсического стресса (аммиак), в естественных или природоподобных системах.

Введение комплекса микроорганизмов из стабильной аквариумной экосистемы обеспечило снижение содержания органических веществ в модельном загрязнителе (говяжий бульон) на 81% – с исходных 31,2 мг/л до 5.8 мг/л по показателю перманганатной окисляемости за 20 суток эксперимента. Это доказывает способность аутохтонных эукариот к эффективной деструкции сложной органики (белки, липиды), характерной для сточных вод животноводства и пищевой промышленности.

Динамика микробного сообщества выявила четкую сукцессионную последовательность. Начальная фаза (0-7 суток) сопровождалась доминированием жгутиконосцев *Bodo* sp. (до 4 330,91 экз/мл в контроле), обеспечивающих первичную переработку легкодоступных органических соединений (снижение окисляемости до 12,8 мг/л на седьмой день наблюдения).

Инфузории *Stylonychia* sp. продемонстрировали максимальную эффективность в минерализации органики и стабилизации системы. Их роль заключалась в фагоцитозе крупных органических частиц и бактерий, эффективном контроле численности бактериальных популяций и жгутиконосцев (численность бактерий в опытных группах была в 4-14 раз ниже, чем в контроле к семнадцатым суткам) и формировании устойчивых трофических цепей.

Контрольная группа (без внесенного сообщества) подтвердила ограниченность простых сообществ (доминирование *Bodo* sp.). Несмотря на начальное снижение окисляемости, произошел коллапс системы (полное исчезновение организмов к четырнадцатым суткам) и рост окисляемости до 17.3 мг/л к 30.04, что указывает на переход в анаэробное состояние и неспособность к полной минерализации без сложного эукариотного сообщества.

Метод на основе аутохтонных эукариотических сообществ (особенно инфузорий рода *Stylonychia*) является высокоэффективной и энергоэффективной альтернативой традиционным методам, таким как аэротенки, требующим постоянной энергозатратной аэрации (0,5-1,5 кВт·ч/м³). Предлагаемый подход работает в условиях, близких к естественным, без принудительной аэрации. Устойчивость к токсикантам (аммиак) и колебаниям нагрузки делает метод особенно перспективным для очистки сложных сточных вод животноводческих комплексов, предприятий мясоперерабатывающей и пищевой промышленности, характеризующихся сочетанным органическим и аммонийным загрязнением. Потенциал для снижения эксплуатационных затрат на очистку оценивается в 30-40% по сравнению с традиционными аэробными биологическими методами за счет исключения затрат на аэрацию и упрощения инфраструктуры при внедрении в природоподобные системы.

Перспективным направлением является углубленное изучение молекулярных механизмов устойчивости доминантных видов (*Stylonychia* sp.) к аммиаку. Важно исследовать синергетические эффекты внутри эукариотных консорциумов (инфузории, амебы, грибы) и их взаимодействия с прокариотами для оптимизации состава биоагентов.

Необходима разработка методик культивирования и интродукции ключевых видов-деструкторов (например, штаммов *Stylonychia*, адаптированных к высоким нагрузкам) в природные и искусственные водоемы или очистные сооружения природного типа.

Следующим этапом должно стать проведение пилотных испытаний технологии на реальных сточных водах целевых отраслей (животноводство, пищевая промышленность) с учетом сезонных колебаний температуры и состава стоков. Также важно оценить долгосрочную стабильность сообществ. Кроме того, актуальной задачей остается разработка количественных методов учета грибной биомассы и ее вклада в деструкцию в сложных гетерогенных системах.

Результаты проведенного исследования подтверждают выдвинутую гипотезу об эффективности аутохтонных эукариотических сообществ (в

частности, инфузорий рода *Stylonychia*) для биологической очистки сточных вод от органических загрязнений даже в присутствии аммиака. Также они демонстрируют их явные преимущества перед традиционными бактериоцентричными системами по энергоэффективности и устойчивости к токсикантам. Разработанная экспериментальная модель и полученные данные создают научную основу для разработки нового поколения природоподобных, ресурсосберегающих технологий очистки сточных вод, обладающих значительным экологическим и экономическим потенциалом. Дальнейшие исследования могут быть направлены на трансляцию этих результатов в практические решения для очистки сложных стоков.

Список использованных источников

1. Абакумов В.А. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. — Л.: Гидрометеиздат, 1983. — 240 с.
2. Васильев П.Н. Антропогенная эвтрофикация водоемов. — СПб.: Гидрометеиздат, 2018. — 167 с.
3. Вертинский А. П. Физико-химические методы очистки сточных вод: проблемы, современное состояние и возможные пути усовершенствования // Инновации и инвестиции. 2019. №11.
4. Волков С.А. «Биологические методы очистки» // Вода: химия и экология. 2019. №5. С. 32-38.
5. Воронов Ю.В. Водоотведение и очистка сточных вод. — М., 2006.
6. ГОСТ Р 55684-2013 «Вода. Метод определения перманганатной окисляемости».
7. Государственный доклад «О состоянии и охране окружающей среды РФ» (2022). — М.: Минприроды России.
8. Джумагулова Н.Т., Гаврилов И.Е., Нгуен Д.Д. Изучение видового состава микроорганизмов, осуществляющих очистку сточных вод // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. — 2019. — Т. 330, № 9. — С. 195-203.
9. Жмур Н.С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод. — М.: АСВ, 2003. — 512 с.
10. Зорин Д.А. «Биоочистка сточных вод» // Экология урбанизированных территорий. 2021. №3. С. 45-51.
11. Иванов А.А. «Роль эукариот в биodeградации органических загрязнений» // Экология и промышленность России. — 2021. — № 3. — С. 34–39.
12. Иванова Л.К. «Экологический мониторинг Рыбинского водохранилища» // Водные ресурсы. — 2020. — № 5. — С. 45–52.

13. Кутикова Л.А., Старобогатов Я.И. «Определитель пресноводных беспозвоночных европейской части СССР». – Л.: Гидрометеиздат, 1977.
14. Латышева В.В., Минин А.Н. «Современные технологии биологической очистки» // Экология и промышленность России. 2023. №3. С. 45-49.
15. Орлов Д.С. «Экотоксикология тяжелых металлов в водных системах». – М.: Изд-во МГУ, 2015.
16. «Природные методы очистки сточных вод» / под ред. Петрова В.В. — М.: Изд-во АСВ, 2020. — 156 с.
17. Отчет Росприроднадзора по аварии на р. Селенга - 2021.
18. Петрова Е.В. «Ферментативная активность инфузорий в сточных водах» // Водное хозяйство. – 2019. – № 7. – С. 56–61.
19. СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания»
20. СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод».
21. Сидоров К.Л. «Эвглены как агенты биоремедиации» // Прикладная биохимия. – 2020. – № 4. – С. 22–27.
22. СП 32.13330.2018 «Канализация. Наружные сети и сооружения».
23. Спицына Т.П., Тасейко О.В. «Комплексные критерии самоочищения водотоков» / Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2018. №2 – с. 248-262.
24. EPA Wastewater Technology Fact Sheet: Meat and Poultry Products. – Washington, 2020.
25. Progress on Ambient Water Quality: Tracking SDG 7 [Прогресс в области мониторинга качества воды] / United Nations Environment Programme. – Nairobi : UNEP, 2022. – С. 46-49.
26. Smith, J. et al. «Eukaryotic contributions to organic matter degradation in wastewater treatment» // Water Research, 2020.

27. Wetzel, R.G. Limnology: Lake and River Ecosystems. – 3rd ed. – Academic Press, 2001.

Приложение А

Таблица А.1 – Сравнительный анализ методов очистки сточных вод

Метод очистки	Принцип действия	Эффективность очистки от органики (БПК/ХПК)	Преимущества	Недостатки	Сфера применения	Энергозатратность	Образование вторичных отходов	Стоимость (относительная)
Химические	Окисление органики активным хлором, дезинфекция.	30-70% (ХПК)	Высокая дезинфицирующая способность, простота дозирования, недорогой реагент.	Образование токсичных хлорорганических соединений (АОХ), коррозионность, зависимость от pH, неполное окисление.	Доработка биологически очищенных стоков (дезинфекция), стоки с низкой органикой.	Низкая-Средняя	Да: АОХ, соли. Требуется контроль и утилизация.	Низкая
Гипохлорит натрия (NaOCl)								
Озонирование (O ₃)	Сильное окисление и частичная минерализация органики озоном, дезинфекция.	50-90% (ХПК)	Высокая окислительная способность, дезинфекция, улучшение биоразлагаемости, не образует солевых остатков.	Высокая стоимость генерации озона, энергоёмкость, образование побочных продуктов (броматы, альдегиды), сложность эксплуатации.	Доработка биологически очищенных стоков, удаление стойкой органики, цветности, запахов, дезинфекция питьевой воды.	Высокая	Да: Побочные продукты окисления (альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты), возможно броматы.	Высокая
Персульфат натрия (Na ₂ S ₂ O ₈) – активированный	Генерация сильных радикалов SO ₄ ⁻ (при нагреве, УФ, ионах металлов) для окисления.	60-95% (ХПК)	Высокая эффективность против стойкой органики, стабильный реагент, различные методы активации.	Требуется активации, может образовывать побочные продукты, стоимость реагента, контроль параметров.	Удаление стойких органических загрязнителей (СОЗ), фармацевтика, пестициды, доочистка.	Средняя-Высокая	Да: Сульфаты, побочные продукты окисления.	Средняя-высокая
Физ-хим.	Нейтрализация заряда коллоидов (коаг.), агрегация частиц в хлопья (флок.) для осаждения.	20-60% (ХПК) - в основном взвешенная/коллоидная органика	Эффективно удаляет взвеси, коллоиды, часть фосфатов, цветность, относительно недорого.	Умеренная эффективность против растворенной органики, образование большого объема шлама, зависимость от дозы/pH.	Предварительная очистка перед биологией/фильтрацией, удаление взвесей, фосфора, цветности.	Низкая-Средняя	Да: Большой объем обводненного шлама (содержит органику, коагулянт, взвеси).	Низкая-средняя
Коагуляция/Флокуляция								

Продолжение таблицы А.1

Флотация	Прилипание частиц (вкл. органики) к пузырькам воздуха и всплытие в виде пены.	30-70% (ХПК) - особенно эффективна для масел, жиров, взвесей	Высокая скорость, эффективность для легких частиц/жиров/масел, компактность.	Умеренная эффективность против растворенной органики, требует реагентов (часто), образование пенного шлама.	Удаление масел, жиров, взвешенных веществ, доочистка после коагуляции, пищевая/нефтехимическая пром.	Средняя	Да: Пенный шлам (концентрированная органика, масла, реагенты).	Средняя
Сорбция (АУ, ПАУ и др.)	Поглощение (адсорбция) молекул органики на поверхности сорбента (чаще акт. уголь).	50-95% (ХПК) - зависит от сорбента и загрязнителя	Высокая эффективность против широкого спектра органики (вкл. стойкую), простота.	Стоимость сорбента, необходимость регенерации/утилизации насыщенного сорбента, не разрушает загрязнения.	Доработка стоков (удаление следовых количеств, цветности, запахов), очистка от специфических загрязнителей.	Низкая	Да: Насыщенный сорбент (концентрированный отход, требует регенерации или утилизации).	Средняя-Высокая (зависит от сорбента)
Ионный обмен	Замена ионов в растворе на ионы в матрице ионита.	Ограничена (в основном ионные формы)	Высокая селективность к ионным соединениям (тяжелые металлы, аммоний).	Малоэффективен для основной массы нейтральной органики (БПК/ХПК), стоимость смол, регенерация, солевые стоки.	Умягчение воды, удаление ионов металлов, нитратов, аммония, специфических ионов.	Низкая-Средняя	Да: Регенерационные растворы (соли, кислоты, щелочи), отработанные смолы.	Средняя-Высокая
Каталитическое мокрое окисление (CWO)	Окисление органики кислородом воздуха при высоких Т (150-350°C) и Р (2-20 МПа) в присутствии катализатора.	70-99% (ХПК)	Глубокая минерализация стойкой/токсичной органики, мало вторичных отходов.	Высокие капитальные и эксплуатационные затраты, сложность и опасность эксплуатации (ВД, ВТ), коррозия.	Концентрированные, токсичные, биостойкие стоки (хим., фарм., нефтехим. пром.), осадки.	Очень Высокая	Минимум: Минерализованные стоки (CO ₂ , вода, соли), возможен инертный шлам катализатора.	Очень Высокая

Продолжение таблицы А.1

Фотокаталитический метод (напр., $\text{TiO}_2/\text{УФ}$)	Генерация активных радикалов ($\bullet\text{OH}$) на поверхности катализатора под действием УФ, окисляющих органику.	50-90% (ХПК)	Возможность полной минерализации, использование солнечного света (упрощенные системы), низкое давление/температура.	Низкая скорость, чувствительность к мутности, необходимость УФ-источников (энергия), стоимость катализатора, масштабирование.	Очистка стоков со стойкими микрозагрязнителями, доочистка, пилотные и малые системы.	Средняя-Высокая	Минимум: Возможно продукты частичного разложения, инертный катализатор.	Средняя-Высокая
Плазменный метод	Воздействие низкотемпературной плазмы (электрический разряд), генерирующей УФ, радикалы, ударные волны, разрушающие органику.	60-95% (ХПК)	Высокая эффективность, компактность, быстрое действие, универсальность.	Технологическая сложность, высокое энергопотребление, проблемы масштабирования, образование побочных продуктов.	Очистка небольших объемов высококонцентрированных/токсичных стоков, локальные установки, новые разработки.	Очень Высокая	Да/Нет: Зависит от режима. Возможны побочные продукты, но в целом меньше, чем при хим. окислении.	Очень Высокая
Биологические	Окисление растворенной органики аэробными микроорганизмами в аэрируемом резервуаре.	90-95% (БПК ₅), 70-90% (ХПК)	Высокая эффективность для биоразлагаемой органики, относительно низкие эксплуатационные затраты.	Требует больших площадей, чувствителен к токсинам/шокам, образование избыточного ила, высокое энергопотребление на аэрацию.	Основная ступень очистки коммунальных и многих промышленных стоков (пищевая, БПК-содержащие).	Высокая	Да: Избыточный активный ил (биомасса + загрязнения), требующий обработки и утилизации.	Средняя (Кап. высокие, Экспл. средние)
Аэротенки (Активированный ил)								
Биопруды (Стабилизационные пруды)	Естественная очистка под действием бактерий, водорослей, солнца и ветра в неглубоких прудах.	70-85% (БПК ₅), 50-70% (ХПК)	Очень низкие эксплуатационные затраты, простота эксплуатации, устойчивость к колебаниям нагрузки.	Требует очень больших площадей, низкая эффективность зимой, возможны запахи, зависимость от климата.	Коммунальные стоки малых населенных пунктов, теплый климат, доочистка.	Очень Низкая	Да: Донные отложения (ил).	Низкая (Кап. низкие, Экспл. очень низкие)

Окончание таблицы А.1

Фиторемедиация	Поглощение, разложение, иммобилизация загрязнений растениями и ассоциированными микроорганизмами.	40-80% (БПК/ХПК) - медленно и сезонно	Низкая стоимость, экологичность, эстетичность, создание среды обитания.	Очень большие площади, медленная скорость, сезонность, эффективность только для определенных загрязнений, риск попадания загрязнителей в пищевую цепь.	Доочистка слабозагрязненных стоков, ливневые стоки, рекультивация земель.	Очень Низкая	Да: Растительная биомасса, требующая утилизации (потенциально загрязненная).	Низкая
Анаэробная очистка (метантенки, UASB и др.)	Разложение органики микроорганизмами в отсутствие кислорода с образованием биогаза ($\text{CH}_4 + \text{CO}_2$).	70-90% (БПК ₅), 60-85% (ХПК)	Низкие эксплуатационные затраты, производство энергии (биогаз), низкий прирост ила, компактность.	Медленный старт, чувствительность к температуре/рН/токсинам, требует доочистки (азот, БПК), возможен запах сероводорода.	Высококонцентрированные органические стоки (пищевая, спиртовая, КОС), осадки сточных вод.	Низкая	Да: Анаэробный ил (стабильнее аэробного), требует обработки/утилизации; Выхлопной газ (после очистки).	Средняя (Кап. средние, Экспл. низкие)

По:

1. Вертинский А. П. Физико-химические методы очистки сточных вод: проблемы, современное состояние и возможные пути усовершенствования // Инновации и инвестиции. 2019. №11.
2. Волков С.А. «Биологические методы очистки» // Вода: химия и экология. 2019. №5. С. 32-38.
3. Жмур Н.С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод. – М.: АСВ, 2003. – 512 с.