

**Химико-технологический институт Прага**  
**Факультет технологии защиты окружающей среды**  
**Учреждение технологии воды и окружающей среды**

---

**Оценка микроскопической картины и отдельных характеристик  
активного ила станции по очистке сточных вод Светла над Сазавой  
в период с июля по сентябрь 2009**



**Разработано в рамках заказа О.О.О. fy BIOPROSPECT**

**Доктор философских наук, инженер Ивета Ружичкова**  
**Инженер Клара Фюрстова**

**Прага, сентябрь 2009 г.**

## Оценка микроскопической картины и отдельных характеристик активного ила станции по очистке сточных вод Светла над Сазавой в период с июля по сентябрь 2009

анализ аппликации биодобавки Биоэнзим О.О.О. fy Bioprosect

### **1. Отбор пробы**

Систематический контроль работы станции по очистке сточных вод Светла над Сазавой с целью оценки микроскопической картины активного ила и ее сепаративных свойств в период дозировки биодобавки Биоэнзим фирмы О.О.О. Bioprosect проводился в период с июля по сентябрь 2009 года. Вид биодобавки Биоэнзим, ее дозировка и собственный режим дозировки были определены заказчиком.

Всего производился анализ 4 образцов активного ила и биологической пены:

- исходный образец перед началом аппликации – 01.07.2009
- 2 образца в течение эксперимента, то есть спустя 3 и 5 недель работы 21.07.2009 и 04.08.2009
- образец спустя месяц после окончания аппликации, предназначенной для оценки влияния биодобавки в более продолжительном временном отрезке, то есть спустя 8 недель после проведения эксперимента – 01.09.2009.

Интервалы анализов были определены по договоренности между заказчиком и исполнителем.

Образцы активного ила и биологической пены были отобраны исполнителем из нитрифицирующей емкости (точечный, мануальный отбор) и транспортированы в холодильном боксе для дальнейшей оценки в лабораторию ХТИ Прага

### **2. Методика оценки эксперимента**

#### **2.1. Микроскопический анализ образцов**

##### *Микроскопический анализ естественных препаратов*

Естественные препараты находились под наблюдением, прежде всего под прямым светом с увеличением 125x250 и далее в фазовом контрасте с увеличением 1250x. Были получены следующие характеристики активного ила:

- форма и морфология комков
  - комки сферической или неправильной формы, компактные или диффузные с твердой или слабой структурой
- размер комков (с использованием вычислительной камеры CYRUS II)
  - небольшие (50-150  $\mu\text{m}$ ), средние (150-500  $\mu\text{m}$ ), большие (>500  $\mu\text{m}$ )
- присутствие небольших фрагментов биомассы (< 50  $\mu\text{m}$ )
- влияние присутствующих волокнистых микроорганизмов на структуру комков активного ила ничтожно, перекрытие комков, открытая структура комков
- наличие свободных диспергированных бактерий
- присутствие неорганических частиц
- наличие и вид зооглеи
  - аморфная или пальцевидная зооглея
- многочисленность и видовое представительство высшей колонизации

Другим шагом микробиологического анализа было определение общей численности присутствующих волокон, характеристика идентификационных черт отдельных видов волокнистых микроорганизмов и установление их индивидуального количества распространенности, то есть определение доминирующих и второстепенных организмов. Оценка проводилась в фазовом контрасте с увеличением 1250х.

Квантификация общего количества волокон проводилась путем числового изображения распространенности в пределах семи-бальной системы 0-6:

0 совсем нет	волокна не присутствуют
1 несколько	волокна в комках присутствуют лишь случайно
2 немного	волокна присутствуют в большем количестве, однако, не во всех комках
3 часто	небольшое количество волокон, 1-5 волокон на комок
4 обычно	среднее количество волокон, 5-20 волокон на комок
5 много	большое количество волокон >20 волокон на комок
6 в избытке	наглядное присутствие большего количества волокон, чем комков

Волокнистый микроорганизм рассматривался в качестве доминирующего при количестве 4 и более.

Характеристика отдельных видов волокон была направлена особенно на такие идентификационные свойства как:

- существование разветвления
- подвижность волокна
- форма волокна
- размещение волокна
- рост эпифитных бактерий
- наличие коробочки
- наличие поперечных перегородок, клеточных перегородок
- диаметр и длина волокна
- размер и форма отдельных клеток
- наличие сернистых гранул
- наличие иных включений

### ***Микроскопический анализ окрашенных препаратов***

Для дальнейшей оценки образцов было необходимо провести основные методы окрашивания, которые дают возможность различить волокнистые микроорганизмы отдельных видов и уточнить назначение доминирующего организма в образце. Это метод окрашивания проводится согласно Грамму и Нейссеру. Препараты оценивались под прямым светом с увеличением 1250х.

### **2.2. Иловый индекс**

Классический иловый индекс (КИ) определяется как специфический объем осевшего ила после 30 минут седиментации в 1л мерном цилиндре ( $V_{30}$ ), по отношению к концентрации активного ила ( $X$ ), то есть:

$$KI = V_{30}/X \quad [ml/g]$$

Концентрация активного ила была определена как нерастворенные вещества. Данный объем гомогенизированного образца был профильтрован через взвешенный фильтр с размером сот 0,4  $\mu m$ , фильтр с фильтрующей заслонкой осушен при  $t = 105 \text{ }^\circ C$  до постоянной массы и взвешен на аналитических весах. Органическая доля активного ила ( $X_{org}$ ) впоследствии была определена как потеря путем обжига при  $550 \text{ }^\circ C$ .

На основании значений указателя ила можно классифицировать вид активного ила, так как показано в таблице 1.

Таблица 1. Значения указателей ила для видов активного ила, выпадающей в осадок различным образом

Вид активного ила	KI [ml/g]
Хорошо осаждающийся	< 100
легкий	100-200
гипертрофированный	> 200

Определение KI было дополнено визуальной оценкой активного ила (цвет), всплыванием (закалка, наличие фрагментов биомассы) и уровня (наличие выплавленного материала).

### 2.3. Пенный указатель

Тенденцию активного ила с более высокой численностью гидрофобных волокнистых микроорганизмов создавать биологическую пену можно определить при помощи так званого пенного указателя. Этот тест, собственно, является инверсионным определением указателя ила. Целью такого определения было установить возможное влияние аппликации биодобавки на тенденцию активного ила плавать на поверхности. Примененный модифицированный метод основан на квантификации отделенной выплавленной биомассы. Данный объем активного ила известной концентрации продувался в течение четырех часов через ячеистую фритту со стандартной интенсивностью аэрации, выплавленный материал регулярно стирался, а далее определялась его концентрация.

Значение пенного индекса (SI) было рассчитано из следующего отношения:

$$SI = (\text{объем выплавленной биомассы} / \text{общий объем биомассы активного ила}) \times 100[\%]$$

Согласно значениям пенного указателя можно определить диапазон сепарационных задач, так как указано в таблице 2.

Таблица 2. Классификация сепарационных задач пенного индекса

Диапазон сепарационных задач	SI[%]
незначительный	0,0-0,5
низкий	0,5-6,0
средний	6,0-10,0
солидный	10,0-15,0
очень солидный	> 15,0

## 3. Оценка результатов

### 3.1. Характеристики седиментации активного ила

Характеристики седиментации активного ила были определены путем измерения классического индекса ила (KI) и наряду с дальнейшими измеренными данными указаны в таблице 3.

В течение всего периода наблюдения значения были  $KI < 90 \text{ ml/g}$  а активный ил также был отнесен к категории «хорошо осаждающейся». Не были установлены какие-либо значительные колебания ни в концентрации активного ила, ни в его органической части, которая стабильно достигала 70%.

**Таблица 3** Характеристики активного ила

	<b>01.07.09</b>	<b>21.07.09</b>	<b>04.08.09</b>	<b>01.09.09</b>
<b>V30 [ml/l]</b>	295	250	240	270
<b>X [g/l]</b>	3,40	3,34	2,88	3,21
<b>KI [ml/l]</b>	87	75	83	84
<b>Xorg [g/l]</b>	2,37	2,35	1,98	2,24
<b>Орг. часть[%]</b>	70	70	69	70

В течение всего периода наблюдения активный ил был коричневого цвета среднего значения и не выделял какого-либо запаха. Плавающий на поверхности материал был чистый, с редко встречающимися небольшими фрагментами биомассы. По окончании теста седиментации на поверхности наблюдался тонкий слой выплавленной биомассы (1-2 мм), покрытие поверхности обыкновенно составляло 80-100%, в последнем образце примерно 30-40%.

### 3.2. Развитие микроскопической картины активного ила

Полные отчеты с комментариями результатов отдельных микроскопических анализов прилагаются в Приложении 1, фото-документация прилагается в электронном виде в Приложении 2 на CD.

#### Морфологические свойства комков и избранные характеристики активного ила

Морфологические свойства комков и обзор дальнейших избранных характеристик активного ила приведены в таблице 4.

**Таблица 4.** Морфологические свойства комков и избранные характеристики активного ила

	0.1.07.09	21.07.09	04.08.09	01.09.09
<b>Морфологические характеристики комков [%]</b>				
<b>Небольшие</b>	15	15	15	35
<b>Средние</b>	25	30	60	65
<b>Большие</b>	60	55	25	-
<b>Сплошные</b>	-	10	15	40
<b>Сплошное ядро</b>	95	90	85	60
<b>Диффузные</b>	5	-	-	-
<b>Другие характеристики активного ила</b>				
<b>Фрагменты &lt; 50µm</b>	++	+	+	++
<b>Свободные бактерии</b>	-+	-+	-	-+
<b>Аморфная зооглея (количество на препарат)</b>	++	++	++	++
<b>Пальцевидная зооглея (количество на препарат)</b>	-	-	-	-
<b>Перекрытие комков</b>	+	+	-	-
<b>Открытая структура</b>	+	+	+	+

Условные обозначения: < 50µm, свободные бактерии: - не присутствуют, +-единичные, + часто встречающиеся, ++ очень часто встречающиеся, ++++ в избытке перекрытие, открытая структура – не присутствует, +присутствует



В исходном образце активного ила преобладали большие, агломерированные комки неправильной формы (60%, >500  $\mu\text{m}$ ) – Рис.1, менее часто встречались средние комки (25%, 150-500  $\mu\text{m}$ ) и небольшие комки (15%, 50-150  $\mu\text{m}$ ). Часто отмечалось присутствие незначительных, с трудом осаждаемых фрагментов биомассы диаметром < 50 $\mu\text{m}$ .

В ходе эксперимента доля небольших комков оставалось постоянным, однако постепенно увеличивалось количество средних комков (с 25 до 60%) за счет больших комков – Рис.2. Такое развитие можно приписать снижению количества некоторых волокнистых микроорганизмов, которые содействовали их взаимному перекрытию и образованию агломератов (см. ниже). Весьма позитивно можно оценивать и наблюдаемое снижение объема незначительных фрагментов биомассы, которые, с учетом своей низкой скорости осаждения с трудом отделяются и могут оттекать в конечный сток и негативным образом оказывать влияние на его химические параметры.

Приведенное направление уменьшения размера комков проявилось и в последнем образце (Рис.3), по окончании аппликации биодобавки, здесь, однако, возможная корреляция аппликации средства с размером комков неправдоподобна, потому что согласно сведениям эксплуатационника в этот период значительно снизился приток сточных вод, а тем самым и эксплуатация очистных сооружений. Под влиянием меньшей подачи внешнего органического субстрата произошло частичное разложение комков и повторное повышение количества микро-комков на первоначальный уровень.

Большая часть комков имела твердую структуру. Наличие свободных, не флокулированных бактерий с самого начала было единичным, после месяца дозирования биодобавки в активный ил они вовсе не были замечены.

С точки зрения внутренней структуры в исходном образце однозначно доминировали комки с образованными, несколькими меньшими сплошными ядрами (95%) – Рис. 1, лишь в единичном количестве встречались полностью диффузные комки (5%). Сплошные комки не были замечены.

В ходе эксперимента происходило постепенное и небольшое улучшение качества комков. Тогда как диффузные комки совсем исчезли из активного ила, доля полностью сплошных наоборот выросла (с 0% на 15%). Это позитивное развитие заметно проявилось и в последнем образце, где доля полностью сплошных комков достигала 40% - Рис.3. Хотя этот факт можно частично приписать меньшему размеру комков, однако также вероятно позитивное влияние введенной биодобавки.



**Рис. 1.** Характер больших агломерированных комков со сплошными ядрами, естественный препарат, прямой свет 125х,01.07.09



**Рис.2** Характер средних комков, естественный препарат, прямой125х,04.08.09

Расценивалось нормальным (10-100/преп.) во всех анализированных образцах активного ила присутствие незначительных, аморфных колоний зооглеи (слизь, внеклеточные биополимеры) диаметром до 50  $\mu\text{m}$ . Дозировка препарата на указанную характеристику не оказывала никакого влияния.

Содержание неорганического материала в активном иле постоянно расценивалось немного выше среднего уровня (Рис.4), что, однако, с учетом отсутствия первичного осадения на очистных сооружениях является совершенно нормальным.

### ***Более высокая колония и другие избранные микроорганизмы активного ила***

Обзор распространения более высокой колонии и других избранных микроорганизмов указан в таблице 5.

Более высокая колония устойчиво замещалась активным сообществом власоглавов, амёб, одноклеточных микроорганизмов (Рис.4), плавающих, ползающих и оседлых инфузорий (Рис.5), а также коловраток (Рис.6), сопровождаемым менее многочисленным сообществом густообразных, а изредка и клещей (Рис.7), их распространение указывает на увеличение периода задержки поступления биомассы, то есть временем существования ила. Из других организмов очень часто и с избытком было замечено наличие спиралевидных бактерий, часто дрожжевых грибов, а в единичном количестве диатомей и зеленых водорослей.

Количественной и самой богатой на виды колония активного ила оценивалась в другом образце, то есть спустя 3 недели после начала эксперимента.

В течение всего периода наблюдения активный ил проявился как полностью активный в физиологическом отношении, возможное токсическое или ингибирующее действие на биологическое сообщество не было доказано.

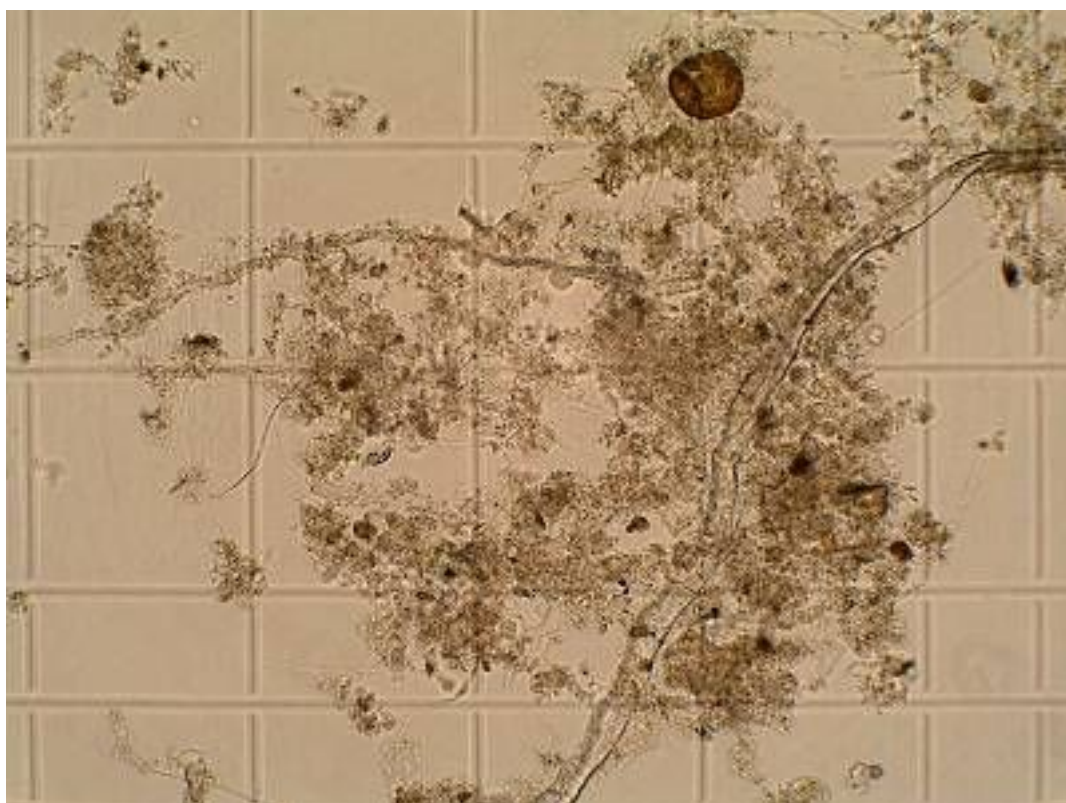
Во всех образцах активного ила было отмечено наличие микроорганизмов, связанных с метаболизмом фосфора. Частью биологического сообщества активного ила в обычном количестве регулярно являлись так званые G бактерии, в большинстве в форме небольших агломератов. Одновременно присутствие полифосфат аккумулирующих (poly-P) бактерий (в форме небольших и средних агломератов) было обнаружено во всех образцах (Рис.8). Кроме того, их количество постоянно увеличивалось, поскольку биологическое устранение фосфора на очистных сооружениях не применяется. Этот факт свидетельствует о переменных анаэробно-окислительных условиях культивации.

Однако увеличение poly-P бактерий не достигло такого уровня, который бы мог оказать возможное неблагоприятное воздействие на сепаративные характеристики активного ила по причине их более высокой вязкости.





**Рис.3** Характер активного ила: большие и средние, часто совершенно сплошные комки, естественный препарат, прямой свет 125x, 01.09.09

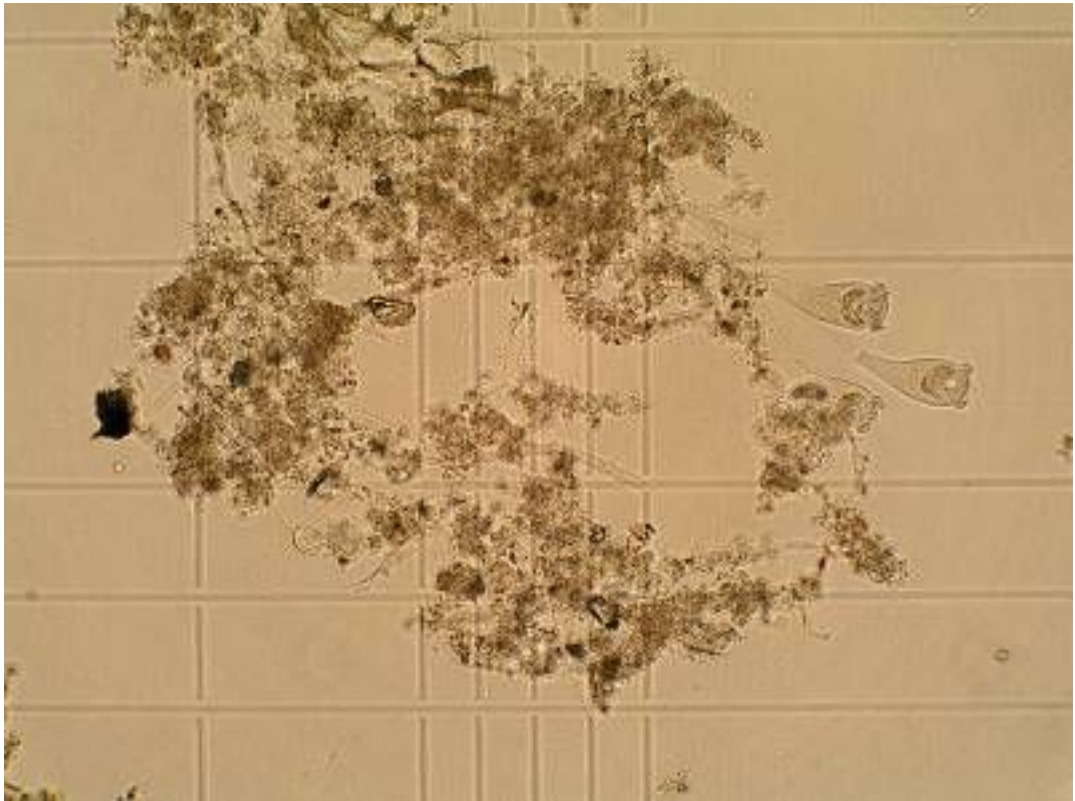


**Рис.4** Присутствие неорганического материала в активном иле и наличие одноклеточных микроорганизмов, естественный препарат, прямой свет 125x, 21.07.09

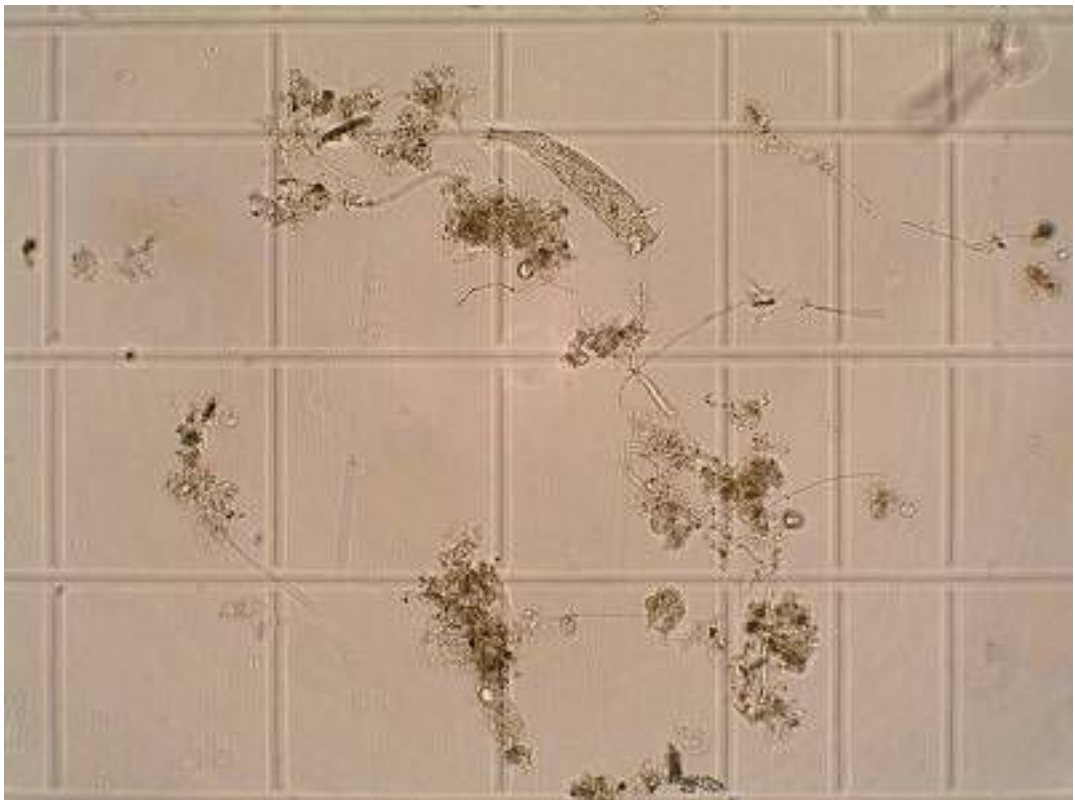
**Таблица 5.** Обзор распространения более высокой колонии и других избранных микроорганизмов

	<b>01.07.09</b>	<b>21.07.09</b>	<b>04.08.09</b>	<b>01.09.09</b>
	<b>Более высокая колония (количество на препарат)</b>			
<b>Власоглавы</b>	10-100	10-100	10-100	10-100
<b>Амебы</b>	<5	10-100	10-100	10-100
<b>Одноклеточные</b>	10-100	>100	>100	>100
<b>Плавающие инфузории</b>	<5	5-10	<5	5-10
<b>Ползающие инфузории</b>	<5	10-100	<5	<5
<b>Оседлые инфузории</b>	10-100	10-100	5-10	<5
<b>Коловратки</b>	5-10	10-100	<5	<5
<b>Глистообразные</b>	<5	<5	<5	-
<b>Черви</b>	-	-	-	-
<b>Клещи</b>	-	<5	-	-
	<b>Другие организмы (количество на препарат)</b>			
<b>Спиралевидные бактерии</b>	>100	>100	>100	>100
<b>Дрожжевые грибки</b>	10-100	10-100	10-100	10-100
<b>Диатомеи</b>	5-10	5-10	<5	5-10
<b>Зеленые водоросли</b>	<5	<5	<5	<5
<b>Poly-P бактерии</b>	<1	1-2	1-2	2-5
<b>G бактерии</b>	1-2	2-5	2-5	2-5

наличие Poly и G бактерий было классифицировано как среднее, количество агломератов в поле зрения микроскопа, окрашивание по Нейссеру при увеличении 1250x

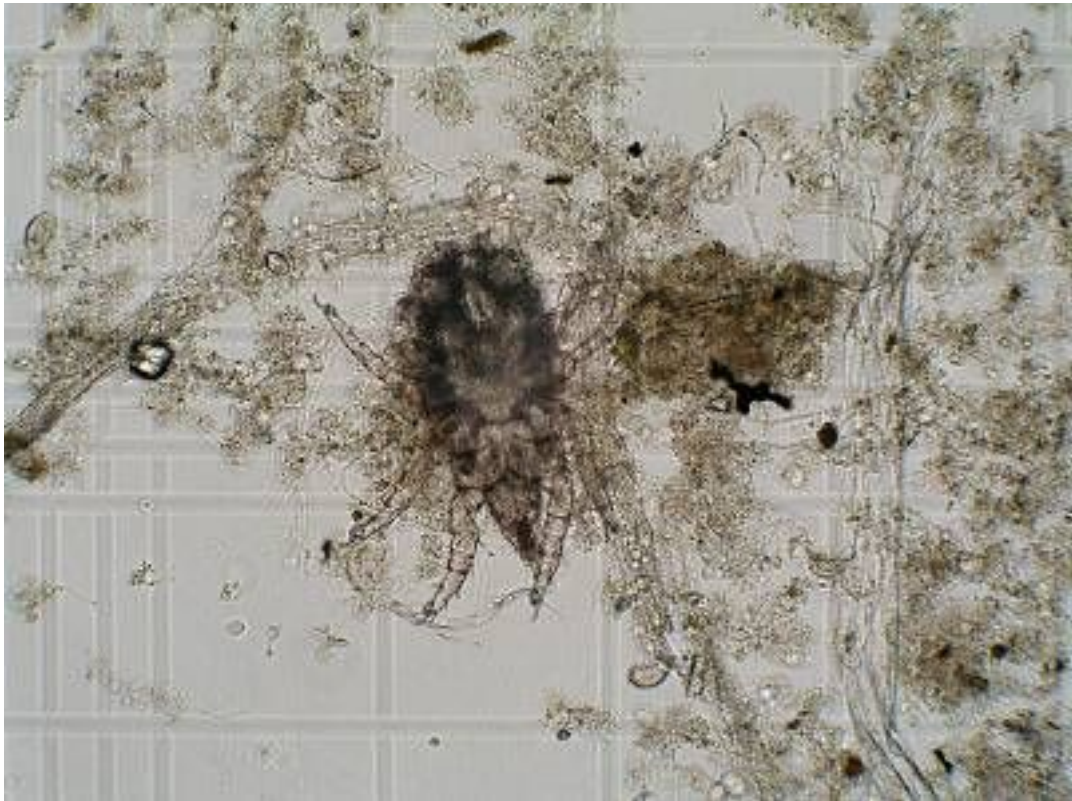


**Рис.5.** Оседлые инфузории, естественный препарат, прямой свет, 125х, 21.07.09

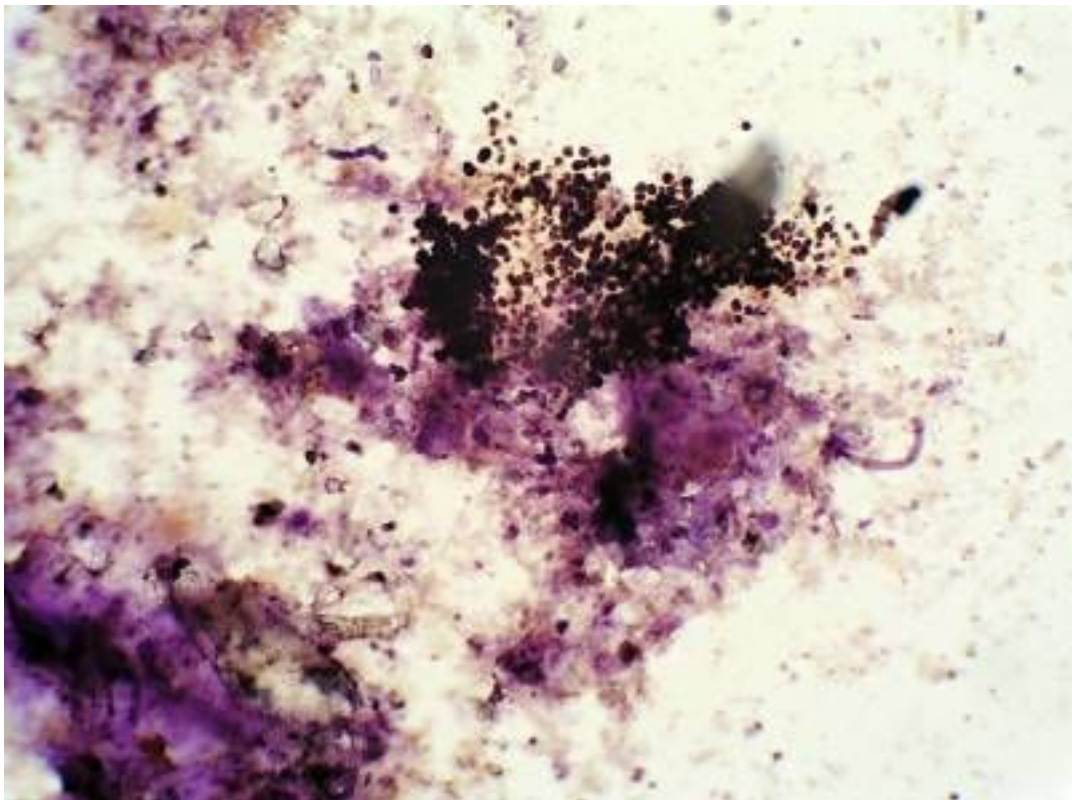


**Рис.6** Коловрат, естественный препарат, прямой свет, 125х, 01.09.09





**Рис.7.** Клещ, естественный препарат,  
прямой свет, 125х, 21.07.09



**Рис.8** Poly-P бактерия, Окрашивание по Нейссеру,  
прямой свет, 750х, 01.09.09



### Волокнистые микроорганизмы активного ила

Обзор количества распространения волокнистых микроорганизмов в активном иле приведен в таблице 6.

**Таблица 6.** Обзор количества распространения волокнистых микроорганизмов в активном иле

	01.07.09	21.07.09	04.08.09	01.09.09
<b>Общее количество</b>	5	4	4*	4*
<b>Доминирующие волокнистые микроорганизмы</b>				
<i>Microthrix parvicella</i>	5	4*	3**	3*
<i>Gordona spp.</i> (GALO)	4	3	3	1
<b>Второстепенные волокнистые микроорганизмы</b>				
<b>Вид 0041/0675</b>	3	3	3	3
<i>Nostocoida limicola</i>	3	2	3	3
<b>Вид 1701</b>	1	1	1	1
<i>Sphaerotilus natans</i>	1	1	1	1
<i>H. hydrossis</i>	1	2	2	2
<b>Вид 0803</b>	1	1	2	2
<b>Вид 1851</b>	2	2	2	3
<b>Грибки</b>	1	1	1	1
<i>Thiothrix spp.</i>	-	-	-	2
<b>Вид 0581</b>	-	-	-	1
<b>Фрагменты G+</b>	+	++	++	—+

\* численность в нижней половине оцениваемого интервала (т.е. ближе к нижней границе)

\*\* волокна встречаются в обычном количестве в форме более коротких фрагментов

#### Условные обозначения:

Фрагменты G+: - не присутствуют, —+ единичные, + в обычном количестве, ++ очень часто

Общая численность волокнистых микроорганизмов в исходном образце была квалифицирована 5 уровнем, то есть как многочисленная (> 20 волокон на комок). Волокнистая популяция была локализована как внутри комков и на их поверхности, так и в свободном пространстве между ними и сравнительно способствовала взаимному перекрытию комков (созданию агломератов) и их открытой структуре.

Микроскопический анализ окрашенных препаратов активного ила доказал распространение 10 видов волокнистых микроорганизмов, из этого 2 доминирующих (то есть с численностью 4 и более).

В качестве доминирующих были идентифицированы: По Граму – положительно, по Нейссеру – отрицательно (с положительными гранулами по Нейссеру) волокнистые микроорганизмы *Microthrix parvicella* (с количеством распространения 5, то есть > 20 волокон на комок) и актиномицеты *Gordona amarae* – like organisms GALO (с численностью распространения 4, то есть 5-20 волокон на комок).

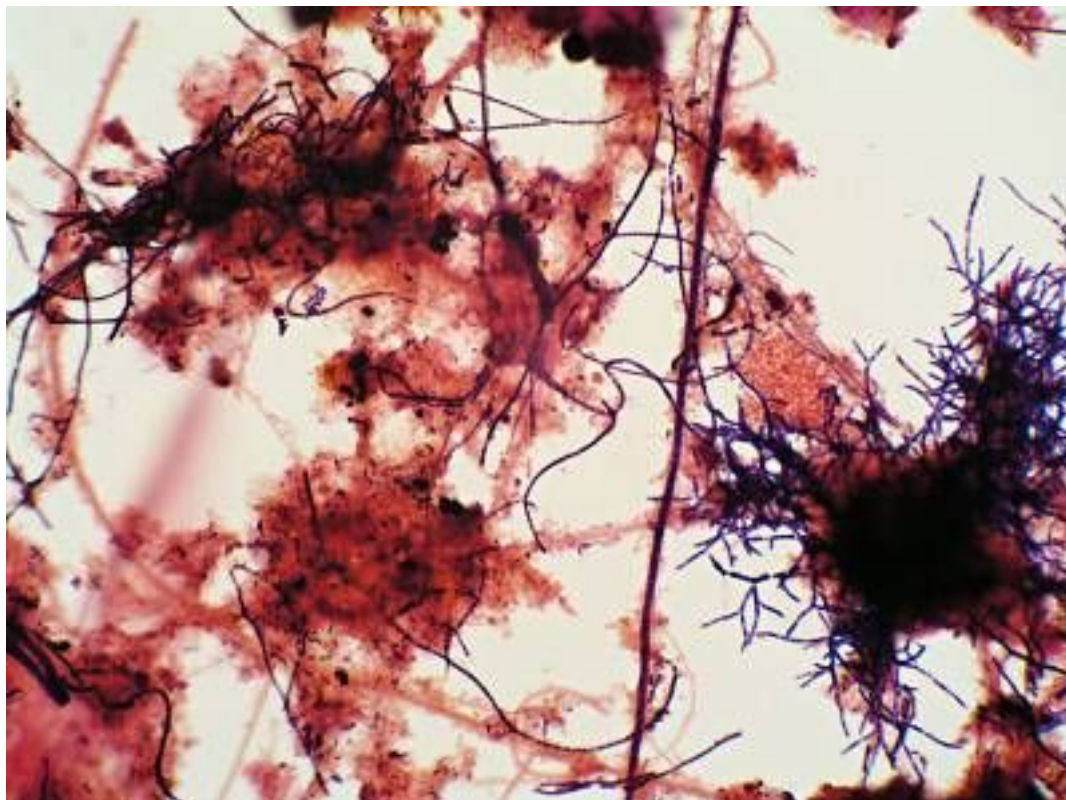
Наличие доминирующего волокнистого микроорганизма *Microthrix parvicella* обычно связано со средними и большими значениями времени существования активного ила со

всеми типами условий культивации (окислительными, неокислительными и анаэробными). На их повышенное количество в некоторых случаях может оказывать влияние наличие специфических гидрофобных субстратов (жиры, масла и т.д.) Наряду с другим доминирующим организмом – актиномицетами GALO он относится к одним из двух наиболее часто встречающимися пенообразующих организмов на очистных сооружениях. Специфические биологические методы снижения роста указанных организмов в биологическом сообществе в настоящее время недоступны.

Уже в первом образце, отобранном спустя три недели после начала эксперимента общее наблюдаемое количество распространения волокон была на один уровень ниже (4, то есть 5-20 волокон на комок). Распространение волокон снижалось и в дальнейшем, однако, принимая во внимание то, что оцениваемый период достаточно велик (см. выше), была оставлена имеющаяся оценка и во всех остальных образцах активного ила. Однако следует подчеркнуть, что, начиная с 5 недели общее количество волокон колебалось в нижней половине интервала, то есть ближе к его нижней границе.

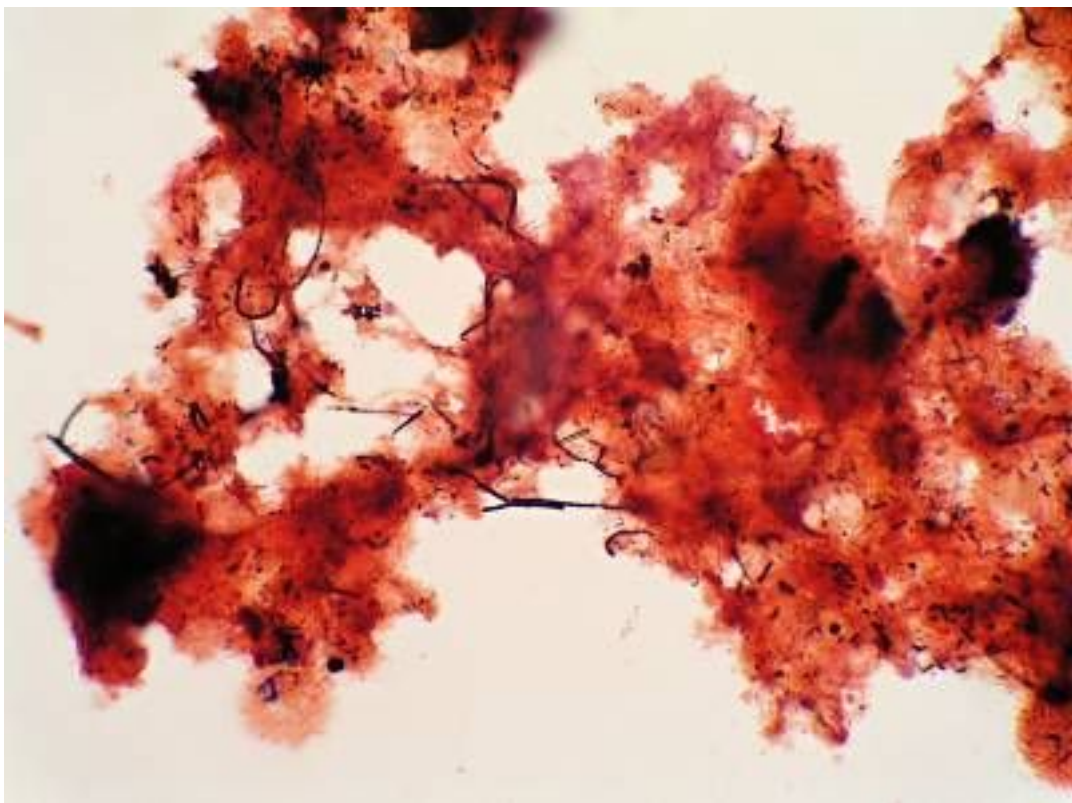
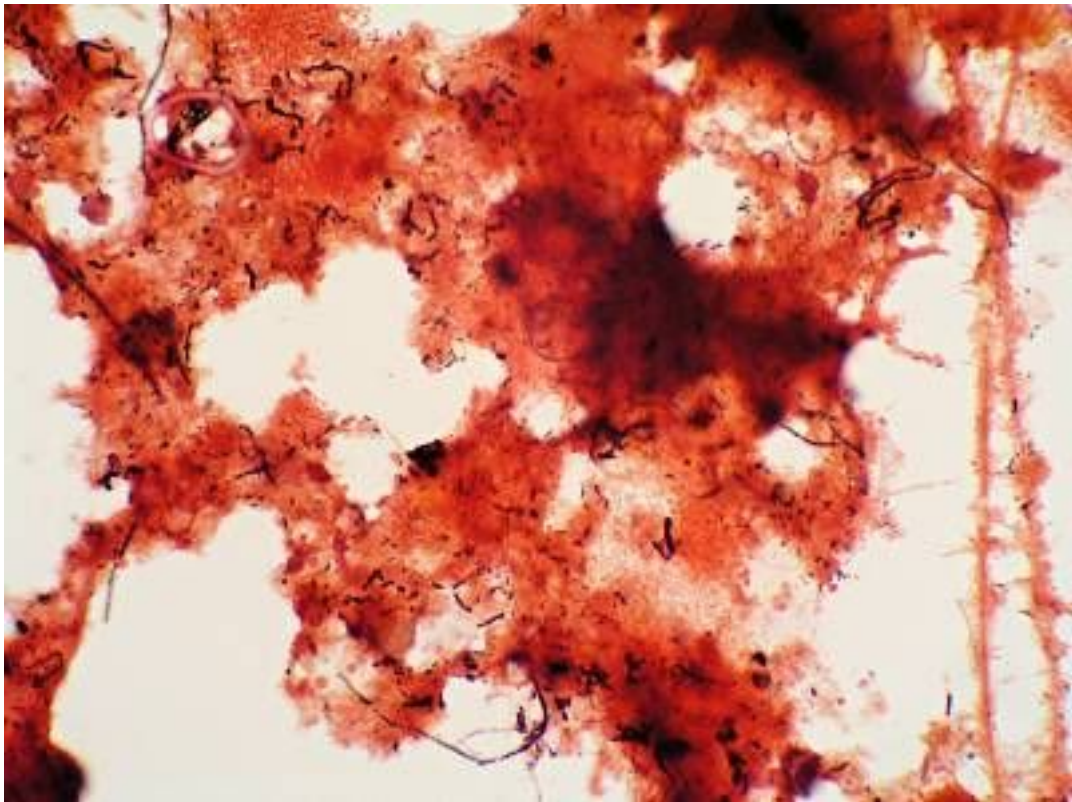
Снижение общего количества волокон первоначально произошло из-за уменьшения доминирующих волокнистых микроорганизмов. Представительство волокна *Microthrix Parvicella* практически с самого начала постепенно снижалось, а именно на уровень 3 (1-5 волокон на комок, в последнем образце снова скорее ближе к нижней границе указанного интервала), обыкновенно было оказано влияние и на его морфологические характеристики – волокна часто присутствовали в форме коротких, разломанных фрагментов (Рис. 9-12).

Подобное направление снижения численности (хотя и не такое последовательное) было отмечено и у актиномицет GALO. Из первоначально доминирующего волокна с количеством распространения 4 (Рис. 13) волокно стало второстепенным, кроме того, в конце эксперимента, то есть за месяц после окончания эксперимента, оно присутствует лишь в единичном количестве, уровень 1.



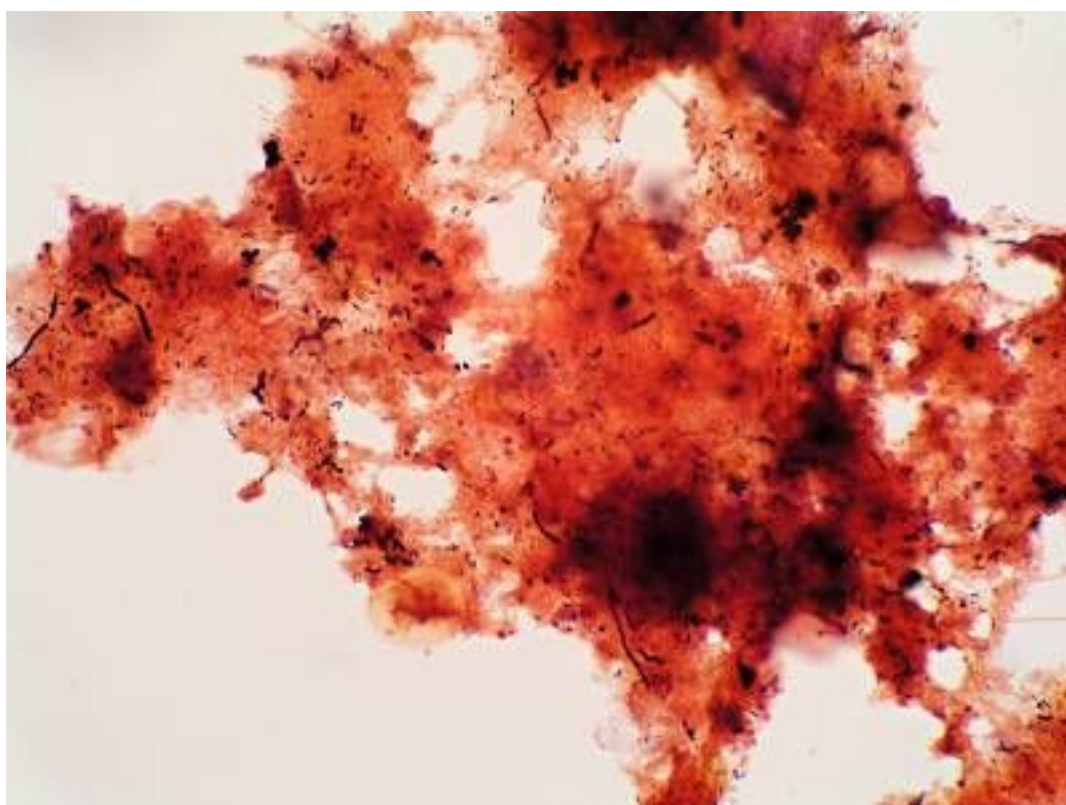
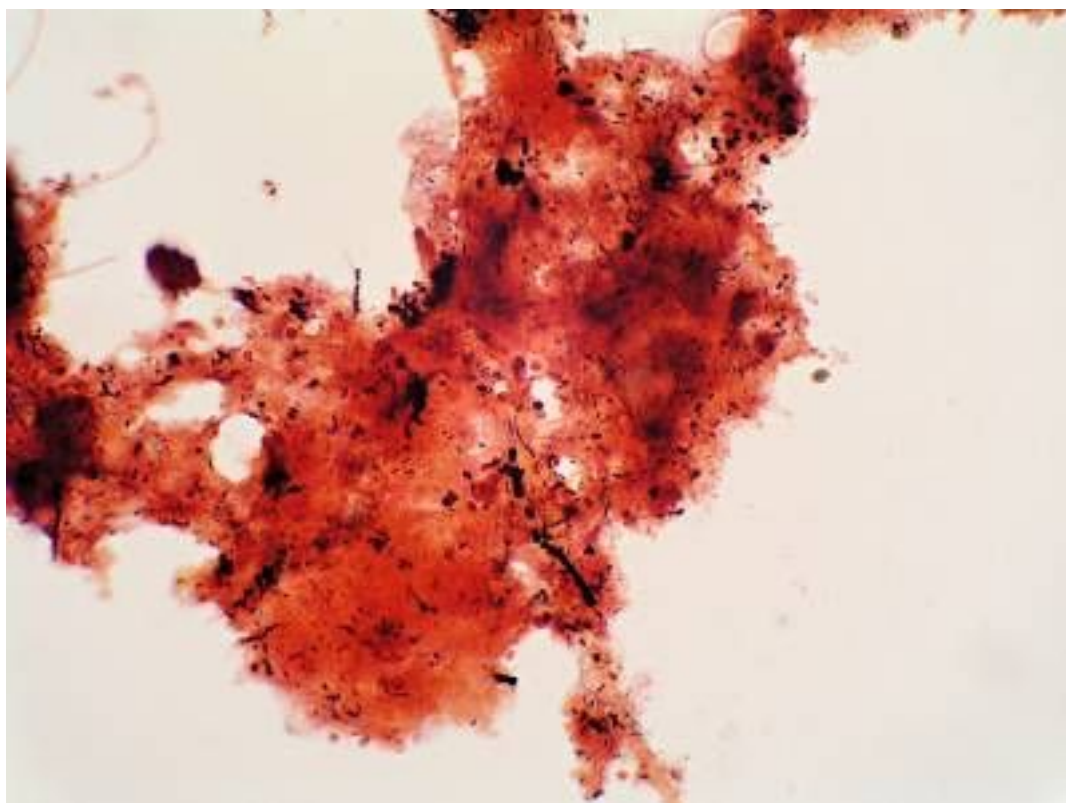
**Рис. 9.** Волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella* – количество 5, окрашивание по Грамму, прямой свет, 750х, 01.07.09



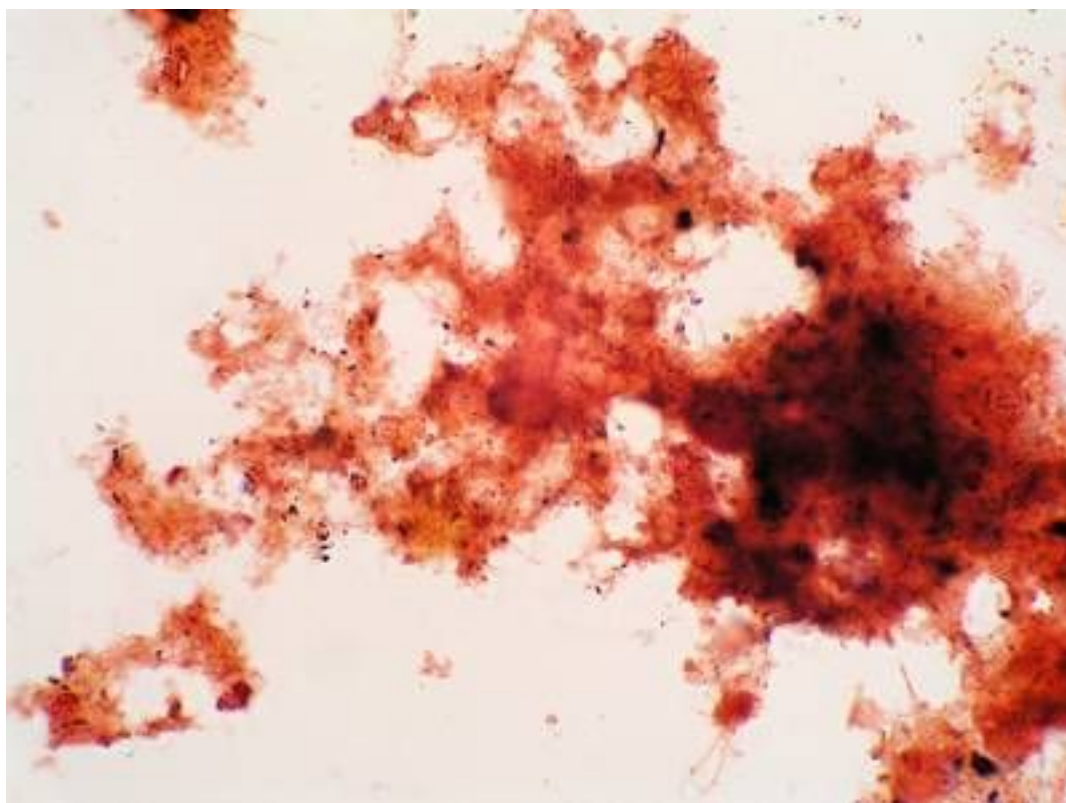


**Рис.10** Волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella* – численность 4, окрашивание по Грамму, прямой свет, 750х, 21.07.09

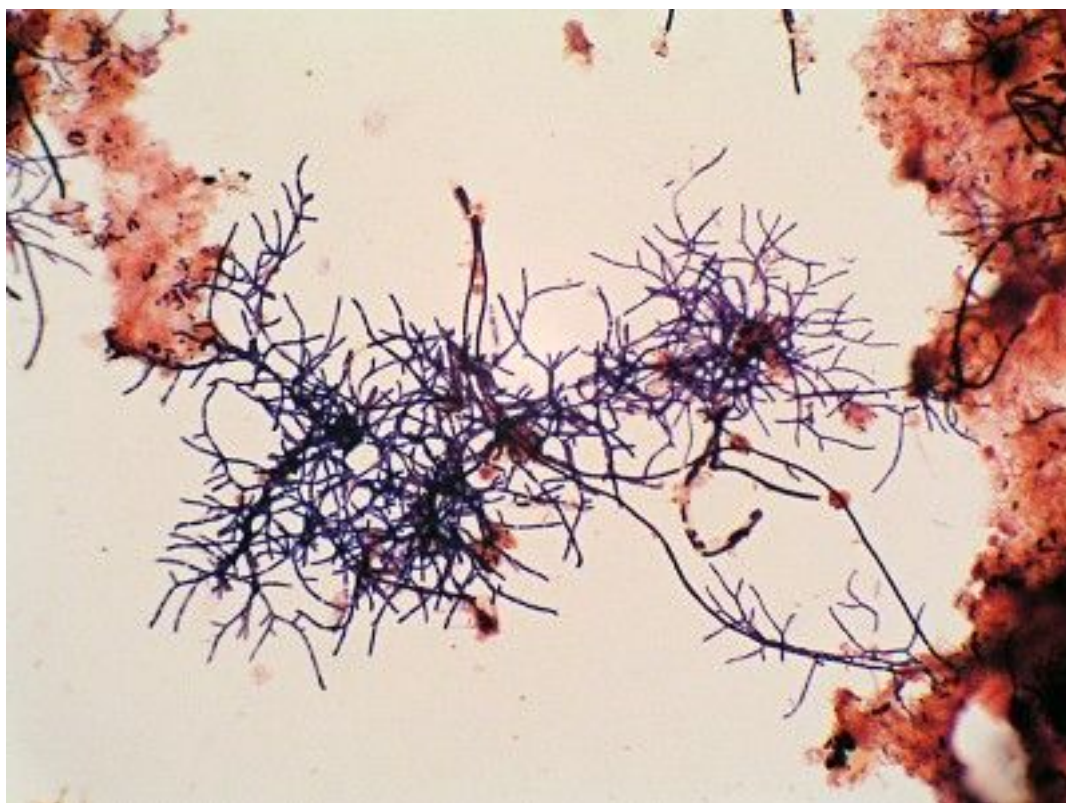




**Рис.11** Волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella* – численность 3, окрасивание по Грамму, прямой свет, 750х, 04.08.09



**Рис.12** Волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella* – численность 3 (примерно 1 волокно/фрагмент на комок), окрашивание по Грамму, прямой свет, 750х, 01.09.09



**Рис. 13.** Актиномицеты GALO –численность 4, окрашивание по Грамму, прямой свет, 750х, 01.07.09

Вышеприведенные факты одновременно привели к ограничению отрицательного воздействия структуры комков с точки зрения их взаимного перекрытия и образования больших агломератов.

Как в исходном образце, так и во всех остальных образцах активного ила было определено устойчивое распространение 8 видов второстепенных волокнистых микроорганизмов. Как второстепенные были идентифицированы следующие волокнистые микроорганизмы:

- Грамм – переменнo, Нейссер – отрицательно - волокно Вида 0041/0675 (устойчиво с численностью 3)
- Грамм – переменнo, Нейссер – положительно - волокно *Nostocoida limicola* (численность 2-3)
- Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно волокно Вида 1851 (численность 2-3)
- Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно - волокна *Haliscomenobacter hydrossis* и Вида 0803 (численность 1-2)
- Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно - волокна *Sphaerotilus natans* и Вида 1701(в единичном количестве 1)
- волокнистые микромицеты (грибки) – в единичном количестве 1

Дальнейшие два вида второстепенных волокон были идентифицированы лишь в последнем образце, а именно:

- Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно - серистое волокно *Thiothrix* spp. (численность 2)
- Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно - волокно Вида 0581 (в единичном количестве 1)

Распространение некоторых второстепенных волокон с длинными трихомами, таких, как, например, Вида 0041/0675 или Вида 1851, хотя понемногу способствовало перекрытию комков, однако, учитывая их низкое количество, возможное влияние на свойства седиментации активного ила было незначительно. Действие других второстепенных волокон на сепаративные характеристики было ничтожно.

Большая часть второстепенных волокнистых микроорганизмов относится к группе организмов, которые, прежде всего, использовали легко разлагаемые биологические субстраты.

В исходном активном иле в обычном количестве было замечено присутствие Грамм – положительных палочек/фрагментов, которые, однако, с учетом их морфологии нельзя было точно идентифицировать. В ходе эксперимента их доля увеличилась, что вероятно связано с уменьшением количества доминирующих волокон, потому что в этом случае речь может идти о фрагментах Грамм – положительных волокнах *Microthrix parvicella* и/или GALO. В последнем образце распространение таких организмов было лишь единично.

### 3.3 Биологическая пена

#### ***Наличие плавающего материала на очистных сооружениях***

В связи с распространением плавающего материала на очистных сооружениях оценочно было установлено покрытие нитрифицирующей емкости (Таблица 7).

Во всех случаях плавающий материал был коричневого цвета среднего значения, густой консистенции и устойчивым. Перед началом эксперимента покрытие уровня достигало примерно 60%, однако необходимо подчеркнуть, что этот исходный уровень в значительной мере был искажен сильным дождем за день до этого, и можно предположить, что если бы на него оказывали воздействие осадки (то есть не был бы разрежен), то вероятно достигнул более высокого значения. В ходе эксперимента далее покрытие уровня немного снизилось, а именно примерно на 50%, по его окончании примерно на 40%. На это последнее значение, однако, в небольшой степени оказали влияние кратковременные дожди.



**Таблица 7.** Полученные характеристики, имеющие отношение к образованию биологической пены на очистных сооружениях

	<b>01.07.09</b>	<b>21.07.09</b>	<b>04.08.09</b>	<b>01.09.09</b>
<b>Покрытие нитрифицирующей емкости плавающим материалом [%]</b>	60	50	50	40
<b>Пенный указатель [%]</b>	3	2	3	2

Сравнение уровня нитрифицирующей емкости очистных сооружений приведено на Рис. 14-17. Полная фото-документация, касающаяся распространения плавающего материала на очистных сооружениях приведена в электронном виде на CD в приложении 2.

Во всех анализируемых образцах согласно измерениям уровень пенного индекса находился в интервале 2-3%. (Таблица 7), что согласно Таблице 2 указывает лишь на «низкий» диапазон сепаративных задач. В связи с аппликацией биодобавки не было доказано какое-либо воздействие на указанную характеристику активного ила, а также на тенденцию активного ила плавать на поверхности.





**Рис.14** Уровень нитрифицирующей емкости, 01.07.09



**Рис.15** Уровень нитрифицирующей емкости, 21.07.09





**Рис.16** Уровень нитрифицирующей емкости, 04.08.09



**Рис.17** Уровень нитрифицирующей емкости, 01.09.09





**Рис.18** Уровень денитрифицирующей емкости, 01.07.09



**Рис.19** Уровень денитрифицирующей емкости, 04.08.09



## Микроскопическая картина биологической пены

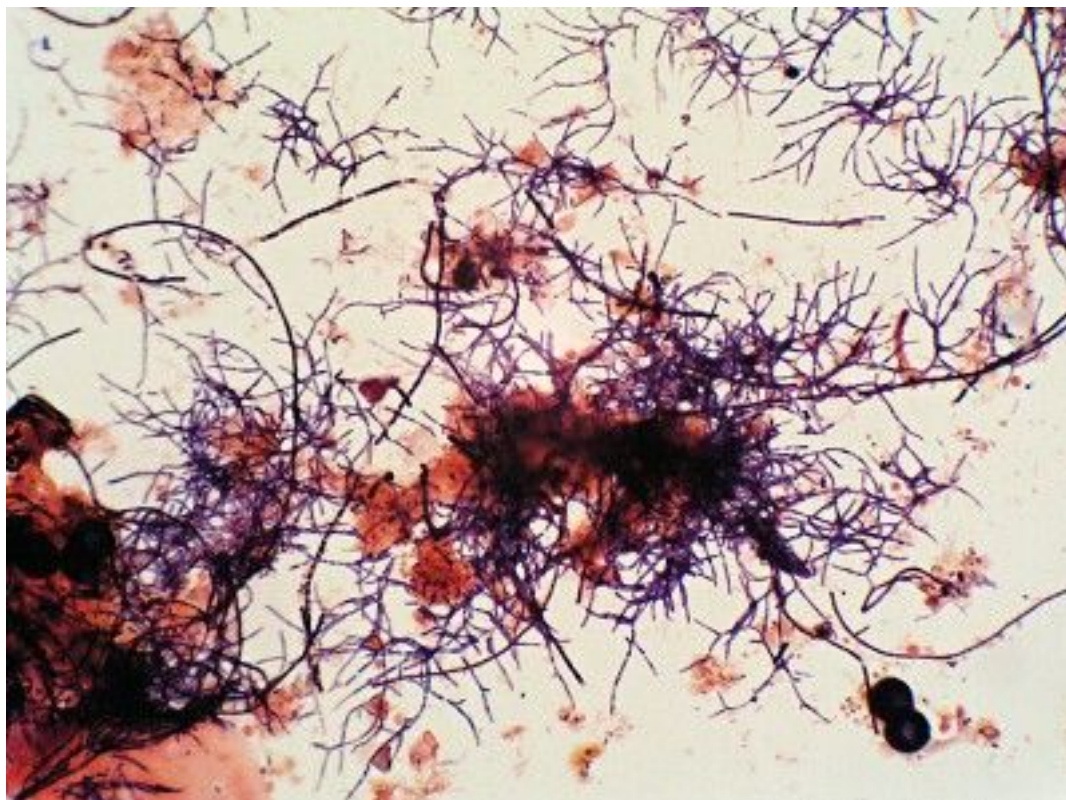
Образцы плавающего материала для микроскопического анализа были отобраны с поверхности нитрифицирующей емкости. Учитывая микроскопическую картину и существенную концентрацию волокнистых микроорганизмов, все образцы были классифицированы как биологическая волокнистая пена.

Микроскопическая картина всех образцов биологической пены с точки зрения видового представительства причинных организмов идентична. Доминирующими организмами были пенообразующие актиномицеты GALO, второстепенные волокна *Microthrix parvicella* (Рис. 20).

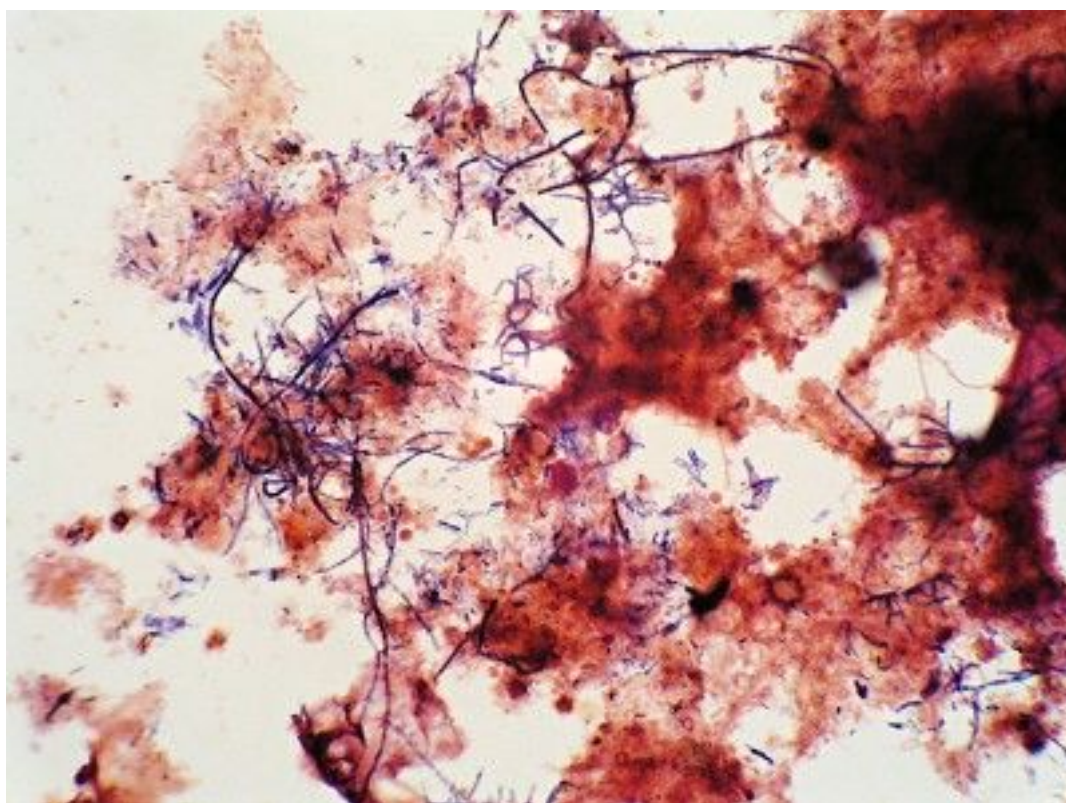
В последнем образце, то есть в образце, отобранном месяц спустя по окончании аппликации, наблюдались, однако, две существенные перемены. Доминирующие волокна GALO были более поломаны и часто проявляли вместо типичной положительной реакции Грамм переменную реакцию Грамм, что может свидетельствовать о более низкой физиологической активности приведенного организма (Рис.21). В этом образце биологической пены также была установлена и немного более высокая доля не волокнистой биомассы чем во всех предыдущих случаях.

В образцах биологической пены в единичном количестве присутствовали и другие волокнистые микроорганизмы (Вид 0041/0675, *Nostocoida limicola*, *Haliscomenobacter hydrossis*, кроме того, в последнем образце *Thiothrix* spp. и Вид 1863, однако, речь не идет о пенообразующих организмах, а о волокна, которые зарождаются в активном иле.

Для сравнения микроскопической картины 21.07.09 был также отобран образец биологической пены с поверхности денитрифицирующей емкости. Можно констатировать то, что его микробный состав был полностью сравним с образцом биологической пены, отобранной в этом периоде из нитрифицирующей емкости.



**Рис. 20.** Характер биологической пены - доминирующее GALO, второстепенные волокна M.parvicella, 01.07.09



**Рис.21.** Характер биологической пены - ломаные волокна GALO, второстепенные волокна M.parvicella, 01.09.09

#### **4. Заключение**

На основании проведенных измерений и микроскопических анализов можно подытожить результаты следующими заключениями:

- в течение всего периода наблюдения активный ил проявлял соответствующие свойства седиментации. Значения индексов ила колебались ниже 90 мл/г, а активный ил также был отнесен к категории «хорошо осаждающийся». Не были отмечены какие-либо значительные колебания ни в концентрации активного ила, ни в его органической доле, которая стабильно достигала 70%.
- в ходе эксперимента увеличилось количество средних комков за счет больших агломератов, что можно приписать уменьшению количества некоторых видов волокнистых микроорганизмов, которые способствовали взаимному перекрытию комков. Одновременно было отмечено и постепенное улучшение качества комков, то есть увеличение полностью сплошных комков. Указанная тенденция наблюдалась и месяц спустя по окончании эксперимента.
- положительно можно оценить как снижение содержания небольших фрагментов биомассы (которые, учитывая низкую скорость осаждения, с трудом отделяются и могут оттекать в конечный сток, а тем самым, оказывать отрицательное воздействие на его химические параметры), наличие свободных, не флокулированных бактерий лишь в единичном количестве.
- во всех анализируемых образцах активного ила было отмечено наличие колоний зооглеи (внеклеточных биополимеров) в обычном количестве, аппликация биодобавки не оказала никакого влияния на указанную характеристику.
- в течение всего времени наблюдения активный ил в физиологическом отношении проявился как полностью активный, возможное токсическое или ингибирующее действие не было доказано.
- очень позитивным было отмечено уменьшение общей численности волокнистых микроорганизмов, которое произошло, прежде всего из-за значительного уменьшения обоих доминирующих волокнистых микроорганизмов, то есть: *Microthrix parvicella* и GALO, у которых, в настоящее время использование биологических методов для подавления увеличения их численности на практике очень ограничено.
- распространение биологической пены в ходе эксперимента было значительно ограничено, аппликация средства не оказала воздействие на тенденцию активного ила к всплыванию отрицательным направлением.
- микроскопическая картина активного ила с точки зрения морфологических характеристик комков и с точки зрения численности присутствующей волокнистой популяции по окончании эксперимента была оценена как очень благоприятная и гарантирующая сепарацию очищенной сточной воды без каких-либо проблем.

Прага, сентябрь 2009

Доктор философских наук, инженер Ивета Ружичкова



## **Приложение 1**

### **Результаты микроскопических анализов – отчеты, комментарии**

Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены станции по очистке сточных вод Светла над Сазавой от 01.07.09

Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены станции по очистке сточных вод Светла над Сазавой от 21.07.09

Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены станции по очистке сточных вод Светла над Сазавой от 04.08.09

Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены станции по очистке сточных вод Светла над Сазавой от 01.09.09

Описание и номер образца	Дата отбора	Дата анализа
Станция по очистке сточных вод Светла над Сазавой	01.07.2009	02.07.2009

1. Естественный препарат – фазный контраст – увеличение 250x, 1250x

а. Численность волокон

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0	1	2	3	4	5	6
совсем нет	несколько	немного	часто	обычно	много	в избытке

Примечание: активный ил коричневого цвета среднего значения, без запаха

Б. Влияние волокон на структуру комков     
 Совсем нет или небольшое перекрытие открытая структура

Примечание: сравнимо

в. Морфология комков        
 прочная слабая сферическая сплошная неправильная диффузная

Примечание: 95% сплошное ядро, 5% диффузное

г. Размер комков (%) 15 25 60 50-150µm 150-500 µm >500 µm	д.) Дисперсионный рост бактерий –+ Наличие неорг./орг. частиц ++ Зооглея ++ Спиралевидные бактерии +++
---	---

Примечание: часто присутствуют небольшие фрагменты комков размером <500 µm++, большие комки = агломераты, крошечная зооглея (<50 µm, в единичном количестве большего размера) и аморфные, сплошные структуры

2. Более высокая колония а.) Простейшие плавающие инфузории –+ ползающие инфузории –+ оседлые инфузории ++ власоглавы ++ амёбы –+	б. Многоклеточные коловратки + Другие глистообразные –+ одноклеточные организмы ++ тина + зеленые водоросли –+
---	---

Примечание: дрожжевые грибки ++ активны

Условные обозначения (-) не присутствуют, (-+) очень мало, (+) 5-10/преп., (++)10-100/преп., (+++)>100/преп.

3. Обзор волокнистых микроорганизмов					
	Численность	Господство		Численность	Господство
<i>Gordona</i> spp. (GALO)	4	доминирующее	<i>Microthrix parvicella</i>	5	доминирующее
Вид 1701	1	второстепенное	Вид 0581		
<i>Sphaerotilus natans</i>	1	второстепенное	Вид 0092		
<i>Thiothrix</i> spp.			Вид 0803	1	второстепенное
Вид 021N			Вид 1851	2	второстепенное
Вид 0041/0675	3	второстепенное	Вид 0961		
<i>H. hydrossis</i>	1	второстепенное	Вид 0914		
<i>Nostocoida limicola</i>	3	второстепенное	Вид 1863		
Грибки	1	второстепенное	Вид 0411		

Примечание: присутствие в обычном количестве Грамм-положительных фрагментов сферической или палочковидной формы +

<b>4. Микроорганизмы метаболизма фосфора</b>	
Poly-P бактерии	—+ единичные небольшие агломераты
G бактерии	+ в обычном количестве, небольшие скопления

Условные обозначения (-) не присутствуют, (—+) в единичном количестве, (+) в среднем 1 агломерат в поле зрения, (++) 2-5 агломерата в поле зрения (+++) 5-10 агломератов в поле зрения, (>+++)>10 агломератов в поле зрения-1250x, Olympus BH2RFCA

<b>5. Биологическая пена</b>	
а. Распространение	примерно 60% уровня AN, коричневого цвета среднего значения, устойчивое, густая консистенция
б. Доминирующие волокна	GALO
в. Второстепенные волокна	<i>M.parvicella</i> , в единичном количестве Вид 0041/0675, <i>N.limicola</i>

### **Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены со станции очистки сточных вод Светла над Сазавой от 01.07.2009**

Был проведен микроскопический анализ естественных препаратов под прямым светом с увеличением 125x и 250x, а в фазовом контрасте с увеличением 1250x. Одновременно был проведен анализ препаратов, окрашенных по методу Грамма и Нейссера, которые оценивались под прямым светом с увеличением 1250x и 750x.

#### **I) Вид образцов и характеристики седиментации**

Образец активного ила был коричневого цвета среднего значения и выделял очень слабый запах. После повторного суспендирования иловая смесь достаточно хорошо осела, объем активного ила после тридцатиминутной седиментации из 1 литра  $V_{30}=295$  ml/l.

#### **II. Анализ естественных препаратов**

В активном иле преобладали комки неправильной формы большие комки (60% >500  $\mu$ m) в агломерированной форме (то есть привязанные волокна), в меньшей степени были представлены средние комки (25%, 150-500  $\mu$ m) и небольшие комки (15% 50-150  $\mu$ m). Часто присутствовали крошечные, с трудом осаждающиеся фрагменты биомассы диаметром <50  $\mu$ m)

С точки зрения внутренней текстуры, однозначно доминировали комки с образованным сплошным ядром (95%, обычно несколько меньших по размеру), лишь в единичных случаях присутствовали полностью диффузные комки (5%). Сплошные комки не были замечены. Комки характеризовались прочной структурой, лишь в единичных случаях было замечено распространение свободных, не флокулированных бактерий (дисперсионный рост). Нормальным (10-100/преп.) было оценено присутствие крошечных, аморфных колоний зооглеи размером <50  $\mu$ m («слизь», внеклеточные биополимеры), а именно сплошной структуры. Пальцевидные колонии в образце отсутствовали. Содержание неорганического материала было расценено как слегка выше среднего (что, учитывая отсутствие первичного осаждения, является нормальным).



Численность распространения волокнистых микроорганизмов была квалифицирована 5-й степенью, то есть многочисленной (>20 волокон на комок). Волокнистая популяция была локализована как внутри комков и на их поверхности, так и в свободном пространстве между ними и сравнительно способствовала взаимному перекрытию комков (образованию агломератов) и их открытой структуре.

Более высокая колония была представлена активным и многочисленным сообществом власоглавы, оседлых инфузорий и одноклеточных (10-100/преп.), сопровождаемой менее многочисленным сообществом коловраток (5-10/преп.), амёб, плавающих и ползающих инфузорий и глистообразных (<5/преп.). Из других организмов активного ила часто были замечены спиралевидные бактерии (>100/преп.), часто – дрожжевые грибки (10-100/преп.), а также в единичном количестве тина (5-10/преп.) и зеленые водоросли (<5/преп.).

### **III. Анализ окрашенных препаратов активного ила**

Микроскопический анализ окрашенных препаратов активного ила доказал наличие 10 видов волокнистых микроорганизмов, из которых 2 доминирующих (то есть с численностью 4 и более). Доминирующими были определены Грамм -положительно, Нейссер -отрицательно (с положительными гранулами Нейссер) волокнистые микроорганизмы *Microthrix parvicella* (с численностью распространения 5, то есть >20 волокон на комок) и актиномицеты *Gordona amarae* - like organisms GALO (с численностью распространения 4, то есть 5-20 волокон на комок).

Второстепенными были определены: Грамм – переменено, Нейссер – положительно волокно *Nostocoida limicola*, Грамм – переменено, Нейссер – отрицательно - волокно Вида 0041/0675 (оба со сравнительным количеством распространения 3, то есть 1-5 волокон на комок), а Грамм – в небольшой степени положительно, Нейссер – отрицательно, волокно Вида 1851 (с численностью распространения 2). В единичных случаях, то есть с численностью 1 уровня, Грамм – отрицательно, Нейссер - отрицательно, присутствовали волокна Вида 1701 *Sphaerotilus natans*, *Haliscomenobacter hydrossis* Вида 0803, а также волокнистые микромицеты (грибки).

В обычном количестве было отмечено присутствие Грамм–положительных палочек/фрагментов, которые, однако, с учетом их морфологии нельзя было точно установить.

Микроорганизмы метаболизма фосфора: распространение poly-P (полифосфат–аккумулирующих) бактерий в форме небольших агломератов и присутствие G бактерий в форме небольших скоплений было как в единичном, так и в обычном количестве.

### **(IV) Анализ плавающего материала из нитрифицирующей части активации**

Образец плавающего материала был коричневого цвета среднего значения, был устойчив и имел густую консистенцию. С учетом микроскопической картины и существенной концентрации волокнистых организмов образец был классифицирован как биологическая, волокнистая пена.

Доминирующими организмами биологической пены были пенообразующие актиномицеты GALO, второстепенным – волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella*. В единичном количестве присутствовали волокна Вида 0041/0675 и *Nostocoida limicola*.

Приложение: микро-фотографии, документирующие состояние биологического сообщества активного ила и биологической пены в электронном виде (11 шт.)

Описание и номер образца	Дата отбора	Дата анализа
Станция по очистке сточных вод Светла над Сазавой	21.07.2009	21.07.2009

**1. Естественный препарат – фазный контраст – увеличение 250х, 1250х**

**а. Численность волокон**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0	1	2	3	4	5	6
совсем нет	несколько	немного	часто	обычно	много	в избытке

Примечание: активный ил коричневого цвета среднего значения, без запаха

**Б. Влияние волокон на структуру комков**     
 Совсем нет или небольшое перекрытие    открытая структура

Примечание: сравнимо

**в. Морфология комков**        
 прочная    слабая    сферическая    сплошная    неправильная    диффузная

Примечание: 10% сплошное, 90% сплошное ядро

<p><b>г. Размер комков (%)</b></p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">15</td> <td style="text-align: center;">30</td> <td style="text-align: center;">55</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">50-150µm</td> <td style="text-align: center;">150-500 µm</td> <td style="text-align: center;">&gt;500 µm</td> </tr> </table>	15	30	55	50-150µm	150-500 µm	>500 µm	<p><b>д.) Дисперсионный рост бактерий</b> –+</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>Наличие неорг./орг. частиц</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>Зооглея</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>Спиралевидные бактерии</td> <td style="text-align: right;">+++</td> </tr> </table>	Наличие неорг./орг. частиц	++	Зооглея	++	Спиралевидные бактерии	+++
15	30	55											
50-150µm	150-500 µm	>500 µm											
Наличие неорг./орг. частиц	++												
Зооглея	++												
Спиралевидные бактерии	+++												

Примечание: часто присутствуют небольшие фрагменты комков размером <500 µm++, большие комки = агломераты, крошечная зооглея (<50 µm, в единичном количестве большего размера) и аморфные, сплошные структуры

<p><b>2. Более высокая колония</b></p> <p><b>а.) Простейшие</b></p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>плавающие инфузории</td> <td style="text-align: right;">+</td> </tr> <tr> <td>ползающие инфузории</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>оседлые инфузории</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>власоглавы</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>амёбы</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> </table>	плавающие инфузории	+	ползающие инфузории	++	оседлые инфузории	++	власоглавы	++	амёбы	++	<p><b>б. Многоклеточные</b></p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>коловатки</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>Другие глистообразные</td> <td style="text-align: right;">–+</td> </tr> <tr> <td>одноклеточные организмы</td> <td style="text-align: right;">+++</td> </tr> <tr> <td>водоросли</td> <td style="text-align: right;">+</td> </tr> <tr> <td>зеленые водоросли</td> <td style="text-align: right;">–+</td> </tr> </table>	коловатки	++	Другие глистообразные	–+	одноклеточные организмы	+++	водоросли	+	зеленые водоросли	–+
плавающие инфузории	+																				
ползающие инфузории	++																				
оседлые инфузории	++																				
власоглавы	++																				
амёбы	++																				
коловатки	++																				
Другие глистообразные	–+																				
одноклеточные организмы	+++																				
водоросли	+																				
зеленые водоросли	–+																				

Примечание: дрожжевые грибки ++, клещи –+ активно

Условные обозначения (-) не присутствуют, (–+) очень мало (++)10-100/преп., (++>) >100/преп.

<b>3. Обзор волокнистых микроорганизмов</b>					
	Численность	Господство		Численность	Господство
<i>Gordona</i> spp. (GALO)	3	второстепенное	<i>Microthrix parvicella</i>	4	доминирующее
Вид 1701	1	второстепенное	Вид 0581		
<i>Sphaerotilus natans</i>	1	второстепенное	Вид 0092		
<i>Thiothrix</i> spp.			Вид 0803	1	второстепенное
Вид 021N			Вид 1851	2	второстепенное
Вид 0041/0675	3	второстепенное	Вид 0961		
<i>H. hydrossis</i>	2	второстепенное	Вид 0914		
<i>Nostocoida limicola</i>	2	второстепенное	1863		
Грибки	1	второстепенное	0411		

Примечание: волокна *M.parvicella* обычно поломаны, численность – ближе к нижней границе интервала, частое присутствие Грамм-положительных фрагментов сферической или палочковидной формы ++

<b>4. Микроорганизмы метаболизма фосфора</b>	
Poly-P бактерии	+ единичные небольшие агломераты
G бактерии	++ в обычном количестве, небольшие скопления

Условные обозначения (-) не присутствуют, (-+) в единичном количестве, (+) в среднем 1 агломерат в поле зрения, (++) 2-5 агломерата в поле зрения (+++) 5-10 агломератов в поле зрения, (>+++)>10 агломератов в поле зрения-1250x, Olympus BH2RFCA

<b>5. Биологическая пена</b>	
а. Распространение	примерно 60% уровня AN, коричневого цвета среднего значения, устойчивое, густая консистенция
б. Доминирующие волокна	GALO
в. Второстепенные волокна	<i>M.parvicella</i> , в единичном количестве Вид 0041/0675, <i>N.limicola</i>

### **Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены со станции очистки сточных вод Светла над Сазавой от 21.07.2009**

Был проведен микроскопический анализ естественных препаратов под прямым светом с увеличением 125x и 250x, а в фазовом контрасте с увеличением 1250x. Одновременно был проведен анализ препаратов, окрашенных по методу Грамма и Нейссера, которые оценивались под прямым светом с увеличением 1250x и 750x.

#### **I) Вид образцов и характеристики седиментации**

Образец активного ила был коричневого цвета среднего значения и совсем не имел запаха. После повторного суспендирования иловая смесь достаточно хорошо осела, объем активного ила после тридцатиминутной седиментации из 1 литра составил  $V_{30}=250$  ml/l.

#### **II. Анализ естественных препаратов**

В активном иле преобладали комки неправильной формы, большие комки (55% >500  $\mu$ m) в агломерированной форме (то есть привязанные волокна), в меньшей степени были представлены средние комки (30%, 150-500  $\mu$ m) и небольшие комки (15% 50-150  $\mu$ m). Часто присутствовали крошечные, с трудом осаждающиеся фрагменты биомассы размером <50  $\mu$ m)

С точки зрения внутренней текстуры, однозначно доминировали комки со сформированным сплошным ядром (90%, обычно несколько меньших по размеру), лишь в единичных случаях присутствовали полностью диффузные комки (10%). Сплошные комки не были замечены. Комки характеризовались прочной структурой, лишь в единичных случаях было замечено распространение свободных, не флокулированных бактерий (дисперсионный рост). Нормальным (10-100/преп.) было оценено присутствие крошечных, аморфных колоний зооглеи размером <50  $\mu$ m («слизь», внеклеточные биополимеры), а именно сплошной структуры. Пальцевидные колонии в образце



отсутствовали. Содержание неорганического материала было расценено как слегка выше среднего (что, учитывая отсутствие первичного осаждения, является нормальным). Численность распространения волокнистых микроорганизмов была квалифицирована 4-й степенью, то есть обычной (5-20 волокон на комок). Волокнистая популяция была локализована как внутри комков и на их поверхности, так и в свободном пространстве между ними и сравнительно способствовала взаимному перекрытию комков (образованию агломератов) и их открытой структуре.

Более высокая колония была представлена активным и многочисленным сообществом одноклеточных (>100/преп.) власоглавок, амёб, оседлых и ползающих инфузорий и коловраток (10-100/преп.), сопровождаемой менее многочисленным сообществом плавающих инфузорий (5-10/преп.), глестообразных и клещей (<5/преп.). Из других организмов активного ила часто были замечены спиралевидные бактерии (>100/преп.), часто – дрожжевые грибки (10-100/преп.), а также в единичном количестве тина (5-10/преп.) и зеленые водоросли (<5/преп.).

### **III. Анализ окрашенных препаратов активного ила**

Микроскопический анализ окрашенных препаратов активного ила доказал наличие 9 видов волокнистых микроорганизмов, из которых 1 является доминирующим (то есть с численностью 4 и более). Доминирующими были определены Грамм -положительно, Нейссер -отрицательно (с положительными гранулами Нейссер) волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella* (с численностью распространения 4, то есть 5-20 волокон на комок ближе к нижней границе интервала).

Второстепенными были определены: актиномицеты *Gordona amarae* – like organisms GALO, Грамм – перемененно, Нейссер – отрицательно - волокно Вида 0041/0675 (оба со сравнительным количеством распространения 3, то есть 1-5 волокон на комок), Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно волокнистый микроорганизм *Haliscomenobacter hydrossis*, Грамм – перемененно, Нейссер – положительно - волокно *Nostocoida limicola*, Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно - волокно Вида 1851 (все с численностью распространения 2). В единичном количестве, то есть с численностью степени 1, Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно, присутствовали волокна Вида 1701, Вида 0803 и *Sphaerotilus natans*, а также волокнистые микромицеты (грибки).

Часто отмечалось присутствие Грамм–положительных палочек/фрагментов, которые, однако, с учетом их морфологии нельзя было точно установить.

Микроорганизмы метаболизма фосфора: распространение poly-P (полифосфат–аккумулирующих) бактерий в форме небольших агломератов и присутствие G бактерий в форме небольших скоплений было как в единичном, так и в обычном количестве.

### **(IV) Анализ плавающего материала из нитрифицирующей части активации**

Образец плавающего материала из денитрифицирующей части активации был светлого цвета и имел сплошную и устойчивую консистенцию. Материал из нитрифицирующей части был темным, коричневого цвета среднего значения, имел сплошную и устойчивую консистенцию, в отличие от предыдущего можно, здесь было проще наблюдать газовые пузырьки.

С точки зрения микроскопической картины оба образца были тождественны, и с учетом существенной концентрации волокнистых организмов оба были классифицированы как биологическая, волокнистая пена.

Доминирующими организмами биологической пены были пенообразующие актиномицеты GALO, второстепенным – волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella*. В единичном количестве присутствовали волокна Вида 0041/0675, *Nostocoida limicola* и *Haliscomenobacter hydrossis*.

**Приложение:** микро-фотографии, документирующие состояние биологического сообщества активного ила и биологической пены в электронном виде (13 шт.)

Описание и номер образца	Дата отбора	Дата анализа
Станция по очистке сточных вод Светла над Сазавой	04.08.2009	04.08.2009

**1. Естественный препарат – фазный контраст – увеличение 250x, 1250x**

**а. Численность волокон**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0	1	2	3	4	5	6
совсем нет	несколько	немного	часто	обычно	много	в избытке

Примечание: активный ил коричневого цвета среднего значения, без запаха

**Б. Влияние волокон на структуру комков**

Совсем нет или небольшое перекрытие    открытая структура

Примечание:

**в. Морфология комков**

прочная    слабая    сферическая    сплошная    неправильная    диффузная

Примечание: 15% сплошное, 85% сплошное ядро

<p><b>г. Размер комков (%)</b></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>15</td> <td>60</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>50-150µm</td> <td>150-500 µm</td> <td>&gt;500 µm</td> </tr> </table>	15	60	25	50-150µm	150-500 µm	>500 µm	<p><b>д.) Дисперсионный рост бактерий</b></p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>Наличие неорг./орг. частиц</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>Зооглея</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>Спиралевидные бактерии</td> <td style="text-align: right;">+++</td> </tr> </table>	Наличие неорг./орг. частиц	++	Зооглея	++	Спиралевидные бактерии	+++
15	60	25											
50-150µm	150-500 µm	>500 µm											
Наличие неорг./орг. частиц	++												
Зооглея	++												
Спиралевидные бактерии	+++												

Примечание: часто присутствуют небольшие фрагменты комков размером <50 µm++, большие комки = агломераты, крошечная зооглея (<50 µm, в единичном количестве большего размера) и аморфные, сплошные структуры

<p><b>2. Более высокая колония</b></p> <p><b>а.) Простейшие</b></p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>плавающие инфузории</td> <td style="text-align: right;">-+</td> </tr> <tr> <td>ползающие инфузории</td> <td style="text-align: right;">-+</td> </tr> <tr> <td>оседлые инфузории</td> <td style="text-align: right;">+</td> </tr> <tr> <td>власоглавы</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> <tr> <td>амебы</td> <td style="text-align: right;">++</td> </tr> </table>	плавающие инфузории	-+	ползающие инфузории	-+	оседлые инфузории	+	власоглавы	++	амебы	++	<p><b>б. Многоклеточные</b></p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td>колдоватки</td> <td style="text-align: right;">-+</td> </tr> <tr> <td>Другие глестообразные</td> <td style="text-align: right;">-+</td> </tr> <tr> <td>одноклеточные организмы</td> <td style="text-align: right;">+++</td> </tr> <tr> <td>водоросли</td> <td style="text-align: right;">-+</td> </tr> <tr> <td>зеленые водоросли</td> <td style="text-align: right;">-+</td> </tr> </table>	колдоватки	-+	Другие глестообразные	-+	одноклеточные организмы	+++	водоросли	-+	зеленые водоросли	-+
плавающие инфузории	-+																				
ползающие инфузории	-+																				
оседлые инфузории	+																				
власоглавы	++																				
амебы	++																				
колдоватки	-+																				
Другие глестообразные	-+																				
одноклеточные организмы	+++																				
водоросли	-+																				
зеленые водоросли	-+																				

Примечание: дрожжевые грибки ++ активно

Условные обозначения (-) не присутствуют, (-+) очень мало, (+)5-10преп. (++)10-100/преп., (++++)>100/преп.

<b>3. Обзор волокнистых микроорганизмов</b>					
	Численность	Господство		Численность	Господство
<i>Gordona</i> spp. (GALO)	3	второстепенное	<i>Microthrix parvicella</i>	3	доминирующее
Вид 1701	1	второстепенное	Вид 0581		
<i>Sphaerotilus natans</i>	1	второстепенное	Вид 0092		
<i>Thiothrix</i> spp.			Вид 0803	2	второстепенное
Вид 021N			Вид 1851	2	второстепенное
Вид 0041/0675	3	второстепенное	Вид 0961		
<i>H. hydrossis</i>	2	второстепенное	Вид 0914		
<i>Nostocoida limicola</i>	3	второстепенное	Вид 1863		
Грибки	1	второстепенное	Вид 0411		

Примечание: волокна *M.parvicella* в обычном количестве в форме коротких фрагментов, частое присутствие Грамм-положительных фрагментов сферической или палочковидной формы ++

<b>4. Микроорганизмы метаболизма фосфора</b>	
Poly-P бактерии	+ единичные небольшие агломераты
G бактерии	++ в обычном количестве, небольшие скопления

Условные обозначения (-) не присутствуют, (-+) в единичном количестве, (+) в среднем 1 агломерат в поле зрения, (++) 2-5 агломерата в поле зрения (+++) 5-10 агломератов в поле зрения, (>+++)>10 агломератов в поле зрения-1250x, Olympus BH2RFCA

<b>5. Биологическая пена</b>	
а. Распространение	примерно 50% уровня AN, коричневого цвета среднего значения, устойчивая, густая консистенция
б. Доминирующие волокна	GALO
в. Второстепенные волокна	<i>M.parvicella</i> , в единичном количестве Вид 0041/0675, <i>N.limicola</i> , <i>H.hydroxsis</i>

### **Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены со станции очистки сточных вод Светла над Сазавой от 04.08.2009**

Был проведен микроскопический анализ естественных препаратов под прямым светом с увеличением 125x и 250x, а в фазовом контрасте с увеличением 1250x. Одновременно был проведен анализ препаратов, окрашенных по методу Грамма и Нейссера, которые оценивались под прямым светом с увеличением 1250x и 750x.

#### **(I) Вид образцов и характеристики седиментации**

Образец активного ила был коричневого цвета среднего значения и не выделял запаха. После повторного суспендирования иловая смесь достаточно хорошо осела, объем активного ила после тридцатиминутной седиментации составил из 1 литра  $V_{30}=250$  ml/l.

#### **II. Анализ естественных препаратов**

В активном иле преобладали комки неправильной формы, средние комки (60%, 150-500µm), в меньшей степени были представлены большие комки в агломерированной форме (25%, >500 µm) и небольшие комки (15% 50-150 µm). В обычном количестве присутствовали крошечные, с трудом осаждающиеся фрагменты биомассы размером <50 µm)

С точки зрения внутренней текстуры, однозначно доминировали комки со сформированным сплошным ядром (85%, обычно несколько меньших по размеру), лишь в единичных случаях присутствовали полностью диффузные комки (15%). Сплошные комки не были замечены. Комки характеризовались прочной структурой, лишь в единичных случаях было замечено распространение свободных, не флокулированных бактерий (дисперсионный рост). Нормальным (10-100/преп.) было оценено присутствие крошечных, аморфных колоний зооглеи размером <50 µm («слизь», внеклеточные биополимеры), а именно сплошной структуры. Пальцевидные колонии в образце отсутствовали. Содержание неорганического материала было расценено как слегка выше среднего (что, учитывая отсутствие первичного осаждения, является нормальным).



Численность распространения волокнистых микроорганизмов была квалифицирована 4-й степенью, то есть обычной (5-20 волокон на комок). Волокнистая популяция была локализована в большей степени внутри комков и на их поверхности и понемногу способствовала их открытой структуре.

Более высокая колония была представлена активным и многочисленным сообществом одноклеточных (>100/преп.) власоглавы и амёб (10-100/преп.), сопровождаемой менее многочисленным сообществом оседлых инфузорий (5-10/преп.), плавающих и ползающих инфузорий, колероваток и густообразных (<5/преп.). Из других организмов активного ила часто были замечены спиралевидные бактерии (>100/преп.), часто – дрожжевые грибки (10-100/преп.), а также в единичном количестве тина и зеленые водоросли (<5/преп.).

### **III. Анализ окрашенных препаратов активного ила**

Микроскопический анализ окрашенных препаратов активного ила доказал наличие 10 видов волокнистых микроорганизмов, из которых не присутствует доминирующий (то есть с численностью 4 и более).

Второстепенными были определены: Грамм – положительно, Нейссер – отрицательно (с положительными гранулами Neisser) волокнистые микроорганизмы *Microthrix parvicella* и актиномицеты *Gordona amarae* like organisms GALO, Грамм – перемененно, Нейссер – отрицательно волокно Вида 0041/0675, Грамм – перемененно, Нейссер – положительно - волокно *Nostocoida limicola* (все со сравнительной численностью распространения 3, то есть 1-5 волокна на комок), Грамм- отрицательно, Нейссер – отрицательно - волокна *Haliscomenobacter hydrossis*, Вид 0803 и Вид 1851 (все с численностью распространения 2). В единичном количестве, то есть с численностью степени 1, Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно, присутствовали волокна Вида 1701, *Sphaerotilus natans*, а также волокнистые микромицеты (грибки).

Часто отмечалось присутствие Грамм–положительных палочек/фрагментов, которые, однако, с учетом их морфологии нельзя было точно установить.

Микроорганизмы метаболизма фосфора: распространение poly-P (полифосфат–аккумулирующих) бактерий в форме небольших агломератов и присутствие G бактерий в форме небольших скоплений было как в единичном, так и в обычном количестве.

### **(IV) Анализ плавающего материала из нитрифицирующей части активации**

Образец плавающего материала был коричневого цвета среднего значения, был устойчив и имел густую консистенцию. С учетом микроскопической картины и существенной концентрации волокнистых организмов образец был классифицирован как биологическая, волокнистая пена.

Доминирующими организмами биологической пены были пенообразующие актиномицеты GALO, второстепенным – волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella*. В единичном количестве присутствовали волокна Вида 0041/0675 и *Nostocoida limicola*.

Приложение: микро-фотографии, документирующие состояние биологического сообщества активного ила и биологической пены в электронном виде (11 шт.)

Описание и номер образца	Дата отбора	Дата анализа
Станция по очистке сточных вод Светла над Сазавой	01.09.2009	02.09.2009

**1. Естественный препарат – фазный контраст – увеличение 250x, 1250x**

**а. Численность волокон**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
0	1	2	3	4	5	6		
совсем нет		несколько		немного	часто	обычно	много	в избытке

Примечание: активный ил коричневого цвета среднего значения, без запаха

**Б. Влияние волокон на структуру комков**

Совсем нет или небольшое перекрытие      открытая структура

Примечание:

**в. Морфология комков**

прочная      слабая      сферическая      сплошная      неправильная      диффузная

Примечание: 15% сплошное, 85% сплошное ядро

<b>г. Размер комков (%)</b>	<b>д.) Дисперсионный рост бактерий</b>
35      65	Наличие неорг./орг. частиц      ++
50-150µm    150-500 µm    >500 µm	Зооглея      ++
	Спиралевидные бактерии      +++

Примечание: часто присутствуют небольшие фрагменты комков размером <50 µm++, крошечная зооглея (<50 µm, в единичном количестве большего размера) и аморфные, сплошные структуры

<b>2. Более высокая колония</b>	<b>б. Многоклеточные</b>
<b>а.) Простейшие</b>	коловратки      -+
плавающие инфузории      +	Другие   глистообразные
ползающие инфузории      -+	одноклеточные организмы      +++
оседлые инфузории      -+	тина      +
власоглавы      ++	зеленые водоросли      -+
амебы      +	

Примечание: дрожжевые грибки ++ активно

Условные обозначения (-) не присутствуют, (-+) очень мало, (+)5-10преп. (++)10-100/преп., (++++)>100/преп.

<b>3. Обзор волокнистых микроорганизмов</b>					
	Численность	Господство		Численность	Господство
<i>Gordona</i> spp. (GALO)	1	второстепенное	<i>Microthrix parvicella</i>	3	второстепенное
Вид 1701	1	второстепенное	Вид 0581	1	второстепенное
<i>Sphaerotilus natans</i>	1	второстепенное	Вид 0092		
<i>Thiothrix</i> spp.	2		Вид 0803	2	второстепенное
Вид 021N			Вид 1851	3	второстепенное
Вид 0041/0675	3	второстепенное	Вид 0961		
<i>H. hydrossis</i>	2	второстепенное	Вид 0914		
<i>Nostocoida limicola</i>	3	второстепенное	Вид 1863		
Грибки	1	второстепенное	Вид 0411		

Примечание: волокна *M. parvicella* в нижней части классифицируемого интервала в единичном количестве присутствие Грамм-положительных фрагментов сферической или палочковидной формы ++

<b>4. Микроорганизмы метаболизма фосфора</b>	
Poly-P бактерии	++ единичные небольшие агломераты
G бактерии	++ в обычном количестве, небольшие скопления

Условные обозначения (-) не присутствуют, (-+) в единичном количестве, (+) в среднем 1 агломерат в поле зрения, (++) 2-5 агломерата в поле зрения (+++) 5-10 агломератов в поле зрения, (>+++)>10 агломератов в поле зрения-1250x, Olympus BH2RFCA

<b>5. Биологическая пена</b>	
а. Распространение	примерно 40% уровня AN, коричневого цвета среднего значения, устойчивая, густая консистенция
б. Доминирующие волокна	GALO (Gv, поломанные волокна), существенная часть не волокнистой биомассы
в. Второстепенные волокна	<i>M.parvicella</i> , в единичном количестве Вид 0041/0675, <i>N.limicola</i> , <i>H.hydroxsis</i> , <i>Thiothrix</i> spp., Вид 1863

#### **Результат микроскопического анализа активного ила и биологической пены со станции очистки сточных вод Светла над Сазавой от 01.09.2009**

Был проведен микроскопический анализ естественных препаратов под прямым светом с увеличением 125x и 250x, а в фазовом контрасте с увеличением 1250x. Одновременно был проведен анализ препаратов, окрашенных по методу Грамма и Нейссера, которые оценивались под прямым светом с увеличением 1250x и 750x.

#### **I Вид образцов и характеристики седиментации**

Образец активного ила был коричневого цвета среднего значения и не выделял запаха. После повторного суспендирования иловая смесь достаточно хорошо осела, объем активного ила после тридцатиминутной седиментации составил из 1 литра  $V_{30}=270$  ml/l.

#### **II. Анализ естественных препаратов**

В активном иле преобладали комки неправильной формы, средние комки (65%, 150-500µm), в меньшей степени были представлены небольшие комки (35%, 50-150µm). Большие комки в активном иле замечены не были. Часто присутствовали крошечные, с трудом осаждающиеся фрагменты биомассы размером <50 µm)

С точки зрения внутренней текстуры, доминировали комки с образованным сплошным ядром (60%), менее часто присутствовали полностью диффузные комки (40%). Сплошные комки не были замечены. Комки характеризовались, прежде всего, прочной структурой, лишь в единичных случаях было замечено распространение свободных, не флокулированных бактерий (дисперсионный рост). Нормальным (10-100/преп.) было оценено присутствие крошечных, аморфных колоний зооглеи размером <50 µm («слизь», внеклеточные биополимеры), а именно сплошной структуры. Пальцевидные колонии в образце отсутствовали. Содержание неорганического материала было расценено как слегка выше среднего (что, учитывая отсутствие первичного осаждения, является нормальным).

Численность распространения волокнистых микроорганизмов была квалифицирована 4-й степенью, то есть обычной (5-20 волокон на комок). Волокнистая популяция была локализована в большей степени внутри комков и на их поверхности, а также понемногу



способствовала их открытой структуре. Присутствие комков в пространстве между комками и связанная с этим задача взаимного перекрытия комков было незначительным. Более высокая колония была представлена активным и многочисленным сообществом одноклеточных (>100/преп.) и власоглавы (10-100/преп.), сопровождаемой менее многочисленным сообществом амёб, плавающих инфузорий (5-10/преп.), оседлых и ползающих инфузорий и коловраток (<5/преп.). Из других организмов активного ила часто были замечены спиралевидные бактерии (>100/преп.), часто – дрожжевые грибки (10-100/преп.), а также в единичном количестве тина (5-10/преп.) и зеленые водоросли (<5/преп.).

### **III. Анализ окрашенных препаратов активного ила**

Микроскопический анализ окрашенных препаратов активного ила доказал наличие 10 видов волокнистых микроорганизмов, из которых не присутствует доминирующий (то есть с численностью 4 и более).

Второстепенными были определены: Грамм – положительно, Нейссер – отрицательно (с положительными гранулами Neisser) волокнистые микроорганизмы *Microthrix parvicella*, Грамм – переменен, Нейссер – отрицательно - волокно Вида 0041/0675, Грамм – переменен, Нейссер – положительно - волокно *Nostocoida limicola*, Грамм - отрицательно, Нейссер - отрицательно – Вид 1851 (все со сравнительной численностью распространения 3, то есть 1-5 волокна на комок), Грамм- отрицательно, Нейссер – отрицательно - волокна *Haliscomenobacter hydrossis*, Вид 0803 и серистое волокно *Thiothrix* spp. (все с численностью степени 2). В единичном количестве, то есть с численностью степени 1, Грамм – положительно, Нейссер – отрицательно (с положительными гранулами Neisser) присутствовали актиномицеты *Gordona amarae*, like organisms GALO, Грамм – отрицательно, Нейссер – отрицательно - волокна Вида 0581, Вида 1701, *Sphaerotilus natans*, а также волокнистые микромицеты (грибки).

В единичном количестве отмечалось присутствие Грамм–положительных палочек/фрагментов, которые, однако, с учетом их морфологии нельзя было точно установить.

Микроорганизмы метаболизма фосфора: распространение poly-P (полифосфат–аккумулирующих) бактерий в форме небольших агломератов и присутствие G бактерий в форме небольших скоплений было в обычном количестве.

### **(IV) Анализ плавающего материала из нитрифицирующей части активации**

Образец плавающего материала был коричневого цвета среднего значения, был устойчив и имел густую консистенцию. С учетом микроскопической картины и существенной концентрации волокнистых организмов образец был классифицирован как биологическая, волокнистая пена.

Доминирующими организмами биологической пены были пенообразующие актиномицеты GALO, второстепенным – волокнистый микроорганизм *Microthrix parvicella*. В единичном количестве присутствовали волокна Вида 0041/0675, *Nostocoida limicola*, Вид 1863, *Haliscomenobacter hydrossis* и *Thiothrix* spp.

В отличие от предыдущих образцов биологической пены образец содержал более значительную долю не волокнистой биомассы. Волокна актиномицет GALO проявляли Грамм-переменную реакцию и часто находились в поломанном виде.

Приложение: микро-фотографии, документирующие состояние биологического сообщества активного ила и биологической пены в электронном виде (17 шт.)

## Приложение 2 – CD

**Фото-документация в электронном виде, документирующая состояние биологического сообщества и распространение биологической пены на станции по очистке сточных вод**

CD: всего 63

Объяснения к микро-фотографиям:

дата в виде ddmmnn:

FK1250 естественный (живой) препарат в фазном контрасте с увеличением 1250х  
GS750 окрашенный по Грамму препарат под прямым светом с увеличением 750х  
NAT125 естественный (живой) препарат под прямым светом с увеличением 125х  
NS750(1250) окрашенный по Нейссеру препарат под прямым светом с увеличением 750х

0041 волокно Вида 0041/0675  
anorg неорганический материал  
BP биологическая пена  
денитрифицирующий  
GALO пенообразующие актиномицеты *Gordona amarae* – like organisms  
Mp волокно *Microthrix parvicella*  
nitrif нитрифицирующий  
N1 волокно *Nostocoida limicola*  
sek второстепенный