

УДК 639.3.034.1

СПОСОБ ВОДОПОДГОТОВКИ ДЛЯ ЗАПУСКА БИОФЛОКОВОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПРОБИОТИКОВ С РАЗНЫМИ КОМПОЗИЦИЯМИ

И. В. Ткачева,

канд. с.-х. наук, доцент, Донской государственный технический университет,
Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: tkacheva-irina85@mail.ru

В. С. Поляхов,

Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: Wasder@list.ru

Аннотация. Исследования проводились для изучения влияния вариаций пробиотических групп на очистку воды и образование флоков в четырех бассейнах объемом 0,7 м³ каждый. На каждую емкость приходилась одна точка восходящего водовоздушного потока (апвеллинга). Концентрация TAN в контейнерах составляла 7 мг/л в начале опыта. В роли углеродосодержащего сырья для питания бактерий флоков выступала свекловичная патока. Добавление патоки в резервуары с флоками проводилось один раз в первый день опыта из расчета 150 мл/м³. Экспериментальным путем установлено, что все группы пробиотиков показали тенденцию к образованию хлопьев активного ила со свойствами использовать TAN для наращивания собственной бактериальной массы и детоксикации воды, что означает их пригодность для применения в биофлоковых системах на этапе запуска.

Ключевые слова: аквакультура, рыбоводство, биофлок, биофлоковая система, БФТ, активный ил, пробиотические бактерии, водоподготовка.

THE METHOD OF WATER TREATMENT TO START A BIOFLOC SYSTEM BASED ON PROBIOTICS WITH DIFFERENT COMPONENTS

I. V. Tkacheva,

V. S. Polyakhov

Summary. Studies have been carried out in four containers with an individual capacity of up to 0.7 m³ to examine the influence of the variations in the probiotic groups studied on water treatment and flocs formation. There has been a point of upwelling for each tank. TAN concentration in the containers was to 7 mg/l at the beginning of the experiences. Molasses was carbonaceous matter to nourish the bacteria flocs. The addition the nutrient to the tanks of BFT was conducted once in the first day of the experience based on 150 ml/m³. By experimental way, it has been determined that all probiotic groups demonstrate a trend towards the flocs of active sludge formation with certain characteristics. The characteristics allow to use TAN for increasing own biological mass and detoxifying water, meaning the suitability for launching biofloc systems.

Keywords: aquaculture, fish farming, biofloc, bioflok system, BFT, activated sludge, probiotic bacteria, water treatment.

Наравне с установками замкнутого водоснабжения (УЗВ) аквакультурные системы на основе технологии биофлок (BioFloc Technology — BFT) обеспечивают промышленные плотности посадки и интенсивный рост гидробионтов, экономя площади и водные ресурсы, при этом удерживая низкий кормовой коэффициент. Также BFT-системы формируют резистивность к некоторым болезнетворным агентам, позволяют избежать необходимости применять при организации рыбного хозяйства дорогостоящие системы водоподготовки [1, 3, 5].

Основа биофлоковых систем — правильно сформированные сообщества микроорганизмов, включающие в себя полезных (пробиотических) бактерий, простейших, водорослей, грибов и других протистов, скрепленных бактериальной слизью в виде полимерного межклеточного матрикса и собранных в хлопья активного ила — так называемые флоки [2]. Фундаментальной основой для формирования стабильных флоков являются пробиотические бактерии, которые в пресноводных системах чаще всего представлены родами *Bacillus* [4].

Для того чтобы флоки осуществляли детоксикацию среды путем переработки TAN ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$), нитритов (NO_2) и нитратов (NO_3) в собственную биомассу, они должны находиться в псевдосжиженном состоянии — хлопья активного ила необходимо поддерживать взвешенными в толще воды и не давать им осаждаться на дно рыбоводной емкости. Это достигается либо за счет высоких плотностей посадок рыбы — от 20 кг на 1 м³ воды — в этом случае рыбы своими перемещениями обеспечивают взвесь флоков в воде, либо за счет интенсивной аэрации в рыбоводной емкости — при пиковых нагрузках подача воздуха возрастает до 1 м³

воздуха на 1 м³ рыбоводной емкости в час. При недостаточной аэрации или плохом перемешивании рыбой флоки выпадают на дно рыбоводной емкости, образуя бескислородные наносы и сероводородные очаги, в которых происходят процессы, аналогичные опрокидыванию консервативного погружного биофильтра. При этом прекращается поглощение азотных веществ микроорганизмами. Одновременно происходят процессы закисания водной среды с падением уровня pH, образования сероводорода (H_2S) и метана (CH_4). Всё это приводит к гибели гидробионтов [1, 2].

Также необходимым условием для функционирования флоков как аналога биофильтра, наряду с поддержкой их в псевдосжиженном состоянии, является наличие источника легкоусвояемого органического углерода, так как культуры бактериальных микроорганизмов в основе флоков являются гетеротрофными и по определению получают углерод из органических источников. Традиционно для этого в воду добавляют сахар, крахмал или патоку в соотношении 5–20:1 углерода к азоту (C: N) [3].

Цель создания устойчивого сообщества микроорганизмов во флоках — переработка общего аммонийного азота (total ammonia nitrogen — TAN), в который минерализуется мочевина, и детоксикация воды.

В BFT существуют три пути превращения TAN для удаления аммиачного азота:

- 1) фотоавтотрофное поглощение водорослями;
- 2) автотрофное бактериальное превращение аммиака в нитрат;
- 3) гетеротрофное бактериальное превращение аммиачного азота непосредственно в бактериальную биомассу хлопьев активного ила, минуя традиционный для аэробной биофильтрации азотный цикл с пре-

образованием TAN \rightarrow нитрит (NO_2) \rightarrow нитрат (NO_3). Чем выше скорость переработки, тем менее токсичной будет вода для культивируемых гидробионтов [6].

Целью данного исследования стало определить пригодность пробиотиков с различными композициями для возможности запуска биофлоковой системы.

Материалы и методы исследования

Во время проведения исследования была поставлена задача установить:

– возможность флокообразования пробиотиками с различными композициями;

– скорость переработки TAN биофлоком на основе различных композиций пробиотических микроорганизмов.

Методика водоподготовки для формирования флоков. Эксперимент проводился в 4 емкостях объемом 700 литров каждая. На каждую емкость приходилась одна точка восходящего водовоздушного потока — апвеллинга — в виде керамического аэратора диаметром 5 см для дегазации и перемешивания масс воды. Количество воздуха равнялось $0,7 \text{ м}^3/\text{ч}$ на емкость.

Температура поддерживалась весь опыт постоянной с изменениями $\pm 0,3 \text{ }^\circ\text{C}$.

Концентрация TAN в емкостях до 7 мг/л была доведена внесением в бассейны 11 г мочевины перед на-

чалом опыта. В роли углеродосодержащего сырья для питания бактерий флоков выступала свекловичная патока с содержанием сахара 48%. Патока в биофлоковые бассейны вносилась из расчета 150 мл/м^3 единоразово в первые сутки опыта. На четвертый день опыта показатели TAN выросли до $8 \pm 0,1 \text{ мг/л}$. Это связано с тем, что белок, содержащийся в патоке, был минерализован гетеротрофными бактериями до TAN.

Композиции из пробиотических организмов были подобраны и составлены лабораторией ООО «Биотехагро» (www.biotehagro.ru).

В опыте были использованы препаративные формы на основе следующих штаммов пробиотических микроорганизмов:

- 1) *Lactobacillus paracaseium*. B-2347;
- 2) *Enterococcus faeciumum*. B-3491;
- 3) *Bacillus subtilis (Bacillus niger)* шт. B-5250;
- 4) *Bacillus subtilis* шт. B-5225;
- 5) *Pseudomonas aurefaciens* шт. BS (393);
- 6) *Streptococcus termophilus um*. B-3492.

Концентрация КОЕ для каждого представленного штамма была не ниже $1 \times 10^8/\text{мл}$.

Все 4 композиции были представлены в средах, которые представляют собой жидкую суспензию от бежевого до коричневого цвета. В состав суспензий входят живые микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности — метаболиты, вода. После хранения пробиотики выдерживались

Таблица 1

Начальные гидрохимические параметры воды, использованной для старта опытных биофлоков

Параметр	t°	O_2	TAN	NO_2	NO_3	SS	pH	Ж
Размерность	$^\circ\text{C}$	%	мг/л	мг/л	мг/л	мл/л	—	$^\circ$
Показатель	$24 \pm 0,3$	100	$7 \pm 0,1$	0,01	$37 \pm 0,1$	0	8,2	16

Таблица 2

Композиции пробиотиков были основаны на следующих штаммах

		Виды пробиотических микроорганизмов			
Композиция	1	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	
	2	<i>Bacillus niger</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	
	3		<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>
	4	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>

при комнатной температуре перед внесением в емкости в течение 10 часов. В каждый бассейн было внесено 5 мл/м³ пробиотического препарата.

Проверка гидрохимических показателей проводилась следующими приборами:

- температура — термометр лабораторный ТЛ-2;
- содержание кислорода — оксиметр Hanna HI 9142;
- pH — pH-метр Hanna HI 98107;
- TAN, NO₂, NO₃, Ж (жесткость) — титровальные тесты и колориметр HACH DR300;
- SS — осаждаемые взвеси, концентрация флоков — седиментационный конус Имхоффа (рис. 1).

Результаты исследования и обсуждение

При водоподготовке для запуска биофлоковой системы посредством пробиотиков с разными композициями все 4 исследуемых пробиотика показали тенденцию к образованию хлопьев активного ила со свойствами использовать TAN для наращивания собственной бактериальной массы и детоксикации воды.

После внесения в емкость с водой бактериям пробиотика необходимо пройти несколько этапов от момента попадания в воду и до перехода на питание азотом из TAN. Ключевыми из них являются:

- активация;
- разрушение (выход) споры;
- поиск субстрата;
- закрепление на субстрате;
- продуцирование полимерного межклеточного матрикса;
- деление;
- образование биопленок;



Рис. 1. Седиментация (осаждение) флоков в конусах Имхоффа

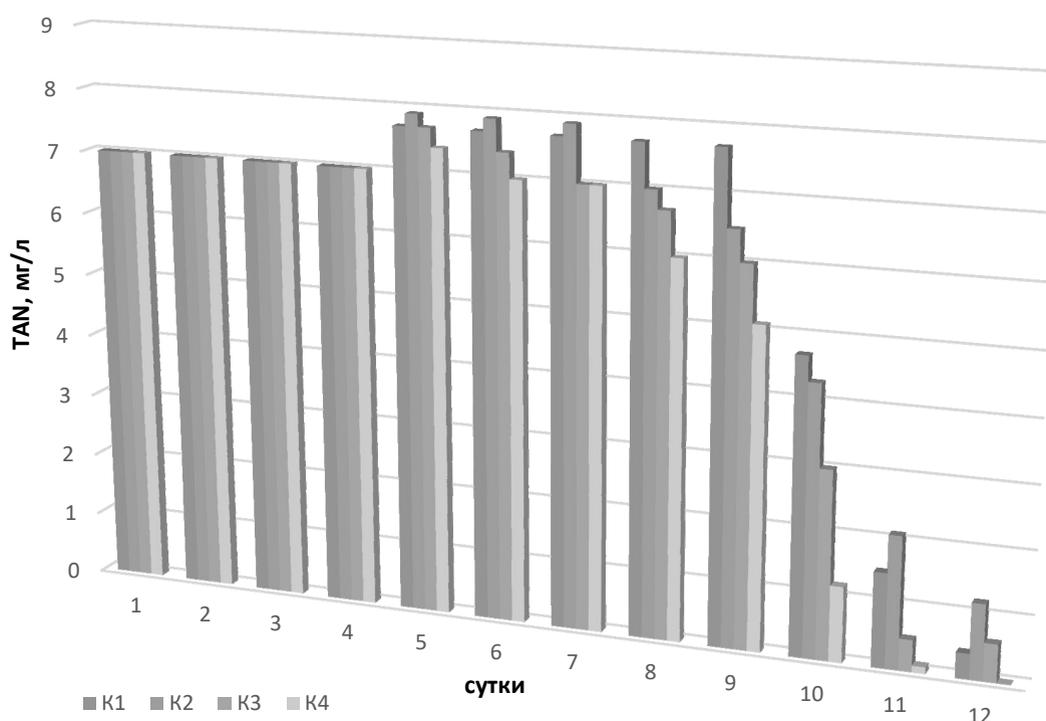


Рис. 2. Концентрация TAN в бассейнах с разными композициями пробиотика

– перестройка на поглощение углерода в виде патоки и азота в виде TAN из окружающей среды;

– образование колоний, достаточных для функционирования кворума;

– проявление чувства кворума и координация поведения в биопленке.

Наибольшую активность при этом продемонстрировал пробиотик с композицией № 4 и видовым составом *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus paracasei*, *Streptococcus termophilus*, *Pseudomonas aureofaciens*. Начало снижения концентрации TAN в бассейнах с ним регистрировалось на 8-й день опыта, а полное поглощение TAN отмечалось уже на 12-й день. Также композиция № 4 сконвертировала $8 \pm 0,1$ мг/л TAN в 13 мл/л флокового осадка, используя углерод патоки. Композиция № 2 переработала 6,8 мг/л TAN за 12 дней, при этом прирост объема флока составил всего 4 мл/л. Нитриты в течение опыта не были обнаружены.

При ограничении в питании азотом в виде TAN и при достаточном

количестве углерода бактерии биофлока могут использовать в виде источника азота NO_3^- , что можно увидеть по снижению его концентрации (табл. 2) в конце опыта; композиция № 4 показала отсутствие нитратов в бассейне, композиция № 2 при этом демонстрирует худший результат в опыте — $13 \pm 0,1$ мг/л.

Заключение

Все 4 пробиотических препарата показали свою пригодность для их применения в биофлоковых системах на этапе запуска.

Наиболее эффективной при этом является композиция № 4, представленная 4 видами пробиотических микроорганизмов — *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus paracasei*, *Streptococcus termophilus*, *Pseudomonas aureofaciens*. За 12 дней данные микроорганизмы понизили концентрацию TAN в воде с $8 \pm 0,1$ мг/л до 0 мг/л, образовав при этом 13 мл/л хлопьев активного ила. NO_3^- в данном бассейне на 12-й день также был на минимальном

Таблица 3

**Гидрохимические параметры воды, использованной
для старта опытных биофлоков**

Начальные гидрохимические параметры								
Параметр	t°	O ₂	NH ₄ /NH ₃	NO ₂	NO ₃	SS	pH	Ж
Размерность	°C	%	мг/л	мг/л	мг/л	мл/л	–	°
Показатель	24 ± 0,3	100	7 ± 0,1	0,01	37 ± 0,1	0	8,2	16
Конечные гидрохимические параметры								
Композиция № 1	24 ± 0,3	98	0,4 ± 0,1	0 ± 0,1	10 ± 0,1	7	7,8	15
Композиция № 2	24 ± 0,3	98	1,2 ± 0,1	0 ± 0,1	13 ± 0,1	4	7,8	16
Композиция № 3	24 ± 0,3	98	0,6 ± 0,1	0 ± 0,1	5 ± 0,1	8	7,6	15
Композиция № 4	24 ± 0,3	98	0,0 ± 0,1	0 ± 0,1	0 ± 0,1	13	7,5	14

уровне из всех вариантов опыта — 0 ± 0,1 мг/л.

Композиция № 2, в которую не входили *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas aureofaciens*, демонстрирует низкую скорость поглощения микроорганизмами TAN и флокообразования — на 12-й день в воде содержалась концентрация TAN 1,2 мг/л и всего 4 мл/л флоков. Также в бассейне с композицией № 2 были повышены уровни NO₃ — 13 мг/л.

Доминирование композиции № 4 в опытах по водоподготовке и флокообразованию, по-видимому, связано с тем, что в ней представ-

лено 4 вида пробиотических бактерий — *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus paracasei*, *Streptococcus thermophilus*, *Pseudomonas aureofaciens* — в отличие от трех других вариантов пробиотических препаратов, в каждом из которых из которых только по три вида. Симбиоз между видами, представленными в композиции № 4, позволяет им наиболее полно использовать питательные ресурсы окружающей среды и образовывать стабильные компактные хлопья активного ила. Данная композиция рекомендуется для начального запуска биофлоковой системы.

Библиографический список

1. Bossier P. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals / P. Bossier, J. Ekasari // Microbial Biotechnology published by John Wiley & Sons Ltd and Society for Applied Microbiology, Microbial Biotechnology. — 2017. — Т.10. — P. 1012–1013.
2. Castro-Nieto L. M. Biofloc systems: a technological breakthrough in aquaculture / L. M. Castro-Nieto, T. Castro-Barrera, R. De Lara-Andrade, J. Castro-Mejía, G. Castro-Mejía // Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente. — 2012. — P. 1–5.
3. Crab R. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges / R. Crab, T. Defoirdt, P. Bossier, W. Verstraete // Aquaculture Volumes. — 2012. — P. 352–356.
4. Daniell N. Exogenous Probiotics on Biofloc based Aquaculture: A Review / N. Daniell, P. Nageswari // Current Agriculture Research Journal. — 2017. — V. 5 (1). — P. 88–107.
5. Hargreaves A. Biofloc Production Systems for Aquaculture / A. John. Hargreaves // SRAC Publication. — April 2013. — P. 45.
6. Emerenciano M. G. C. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water / M. G. C. Emerenciano, L. R. Martínez-Córdova, M. Martínez-Porchas, A. Miranda-Baeza // Quality Management in Aquaculture Submitted. — 2017. — P. 95.