

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И МОЛОДЕЖИ
РЕСПУБЛИКИ КРЫМ

МУНИЦИПАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЙ «ЦЕНТР
ДЕТСКОГО И ЮНОШЕСКОГО ТВОРЧЕСТВА» г.САКИ
РЕСПУБЛИКИ КРЫМ

Номинация: ландшафтная экология и геохимия

**СУЛЬФАТРЕДУКЦИЯ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ ВОСТОЧНОГО БАССЕЙНА
САКСКОГО ОЗЕРА**

Работу выполнила:

Минченкова Ирина,
обучающаяся 10 класса МБОУ
«Школа-лицей им. Героя
Советского Союза Ф.Ф.Степанова»
г.Саки;
МБОУ ДО «ЦДЮТ»

Научный руководитель:

Ткаченко Светлана Олеговна,
педагог дополнительного
образования
МБОУ ДО «ЦДЮТ»;
Васильева Татьяна Ивановна,
учитель биологии МБОУ «Школа-
лицей им. Героя Советского Союза
Ф.Ф.Степанова» г.Саки

г.Симферополь-2019 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
РАЗДЕЛ 1. Объект, методы и условия проведения исследования.....	18
1.1. Объект исследования.....	18
1.2. Методы культивирования эколого-трофических групп микроорганизмов на питательной среде.....	18
1.2.1. Определение гнилостных бактерий, выделяющих сероводород, аммиак, индол.....	19
1.2.2. Определение сульфатредуцирующих микроорганизмов на среде Штурм.....	19
1.2.3. Определение тионовых бактерий на среде Бейеринка.....	20
1.2.4. Определение железooksисляющих бактерий.....	20
1.2.5. Определение интенсивности развития микроорганизмов.....	21
РАЗДЕЛ 3. Результаты исследования.....	22
ВЫВОДЫ.....	24
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	25
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	26
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	27

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ГГРЭС - Сакская гидрогеологической режимно-эксплуатационная станция

КОЕ – колониобразующая единица

МПА - мясопептонный агар

НД – нормативная документация

ОМЧ - общее микробное число

ВВЕДЕНИЕ

Сакское соленое озеро - единственное месторождение лечебных ресурсов в Крыму, эксплуатируемое по всем правилам гидрогеологии. Уже давно озеро не природный объект, а искусственно регулируемый водоем, расположенный в зоне городской инфраструктуры с повышенной техногенной нагрузкой. Озеро состоит из семи самостоятельных водоемов, и только два из них представляют интерес для использования в качестве месторождения лечебной грязи. [3]

В Сакском озере постоянно происходит грязеобразование - очень сложный и длительный процесс. [4] В одном грамме иловой грязи содержится несколько миллиардов микроорганизмов, благодаря которым образуются биологически активные соединения, такие как оксиды железа, медь, кобальт, аминокислоты, витамины и другие вещества. [5] Активное воздействие на организм человека оказывают все компоненты и свойства грязи: физические, химические, биологические. Под влиянием грязелечения происходят сложные процессы в нервной системе больного, эндокринных железах, в крови. В организме активизируются силы, способные победить болезнь. [6]

Рапа – вода соленого Сакского озера, представляющая собой насыщенный раствор. Прозрачна, может иметь желтоватый оттенок. В рапе постоянно происходят различные химические процессы, ведущие к изменению солевого состава. В составе рапы присутствуют катионы натрия, калия, магния, кальция; анионы: сульфаты, хлориды, гидрокарбонаты; микроэлементы: бром, фосфор, мышьяк, цинк, медь, свинец, никель, серебро; а также кремнистая кислота, фенолы, гуминовые кислоты, витамины, гормоны, биогенные стимуляторы, аминокислоты, жирные кислоты, полисахариды.

Актуальность работы. Бактерии, населяющие толщу рапы и донных отложений, характеризуются большим разнообразием процессов обмена. Они принимают активное участие в круговороте веществ. Разлагая растительные и животные остатки, осуществляют

минерализацию органики. Продуктами их метаболизма являются биологически активные вещества, антибиотики, ферменты, витамины и т.д., обладающие фармакологическими свойствами. Кроме разложения происходят процессы синтеза различных веществ, многие из которых обеспечивают бальнеологические свойства минеральным ресурсам.

Цель и постановка задач исследования

Целью нашей работы является определение основных эколого-трофических групп микроорганизмов, обитающих в рапе и грязи иловой сульфидной Восточного бассейна Сакского озера.

Задачи:

2. Изучить методики проведения исследования.
3. Проведение ежемесячно микробиологических анализов грязи и рапы в течении года

Практическая значимость проекта заключается в том, что микробиологические исследования позволяют идентифицировать эколого-трофические группы бактерий, оценить их интенсивность развития, сделать выводы об экологической ситуации в Восточном бассейне Сакского озера.

Объект исследования – Восточный бассейн Сакского озера.

Предмет исследования грязь иловая сульфидная Восточного бассейна Сакского озера.

Общие сведения о Сакском озере

На территории Крымского полуострова в 80-х годах XX века насчитывалось около 40 природных озер, обладающих лечебными ресурсами: лечебной рапой и грязями. Большинство озер лиманного происхождения и система их образования одинакова. В процессе формирования лечебных ресурсов, в силу специфических географических условий,

доминантными выступали различные природные факторы, что и обусловило химическое и биологическое отличие между данными отложениями водоемов.

На протяжении десятилетий, все соленые озера испытывали сильное техногенное воздействие, прежде всего со стороны химической промышленности и сельского хозяйства. В результате чего, на сегодняшний день только некоторые озера сохранили свои лечебные свойства. Одним из таких озер является Сакское соленое озеро [1].

Ежегодно на Сакском месторождении добывается до 80 т лечебных грязей, а рапа озера используется для обслуживания более 100 санаториев и здравниц. Гидрологический режим водоема полностью регулируется человеком, что в условиях непрерывного техногенного воздействия позволяет сохранить лечебные ресурсы озера.

В настоящее время по берегам озера располагается целый ряд источников загрязнения, которые оказывают непосредственное влияние на качество природных лечебных ресурсов. Это действующие садово-огородные кооперативы, производственное объединение тепловых сетей, ряд санаториев, военный гарнизон, совхоз Саки, жилые кварталы г. Саки, прилегающие села Михайловка и Орехово и промзона – молокозавод, завод минеральных вод, стройматериалов, колбасные цеха, предприятия Горгаз и Горводоканал.

Планомерное изучение Сакского озера началось в 1916 г., когда гидрометрической частью Министерства земледелия была послана экспедиция проф. П. Кашинского. Поставленные широко работы, к сожалению, начавшейся войной были прерваны, и гипсование озера продолжалось. И только лишь в 1925 г. Главное курортное управление послало в Саки физико-химическую и гидробиологическую экспедицию профессоров С. Н. Щукарева и Б. В. Перфильева для детального всестороннего обследования озера и выявления ряда практических заданий. Экспедиция работала три года в тесном контакте с Наблюдательной станцией, основанной в 1926 г. как постоянно функционирующее учреждение при Сакском государственном курорте [2].

В дальнейшем изучением гидроминеральных ресурсов озера в разное время занимались такие ученые как: Дзенс-Литовский А.И., Пастак С.А., Щукарев С.Н., Косовская А.Ф. и др.

Полученные данные при изучении Сакского соленого озера, используются для исследования других аналогичных озер как на территории АРК, так и за ее пределами.

Гидрогеологическое описание района исследований

Сакское солёное озеро представляет собой затопленное морскими водами устье двух балок: Чеботарской и Чокракской, отделённых от моря морской пересыпью шириной до 600м и высотой 3-4м. Берега озера не превышают 7м, водоразделы в значительной мере сглажены, в ряде мест видны обнажения горных пород.

На сегодняшний день Сакское соленое озеро представляет собой 7 изолированных друг от друга водоемов, каждый из которых имеет свое промышленное или лечебное назначение и свой гидрологический режим, контроль. Восточный бассейн - современный район добычи гидроминеральных ресурсов (лечебных пелоидов и покровной рапы), носит названия Лечебного озера (водоема). [6]

В современном своем состоянии озеро представляет каскад изолированных друг от друга водоемов, которые делятся на три группы:

I группа. Водосбор Михайловской и Чеботарской балок:

1. Михайловский пруд.
2. Буферный бассейн.

II группа. Водосбор Чокракской балки:

1. Водоём Чокрак.
2. Водоём Ковш.
3. Накопительные и испарительные бассейны.

III группа. Месторождение лечебной грязи и рапы:

1. Западный лечебный. Западный лечебный бассейн является резервным бассейном для перспективной добычи кондиционной грязи и рапы (площадь равна $3,67\text{ км}^2$, объём равен $3,29$ млн. м^3 , среднемноголетние превышения над уровнем Чёрного моря $H = -0,9$).

2. Восточный лечебный бассейн является площадью современной добычи лечебной грязи и рапы на основании государственной лицензии на разработку месторождения (площадь равна $1,42\text{ км}^2$, объём равен $1,27$ млн. м^3 , среднемноголетние превышения над уровнем Чёрного моря $H = -0,9\text{ м}$) (рис.1.1) [6].

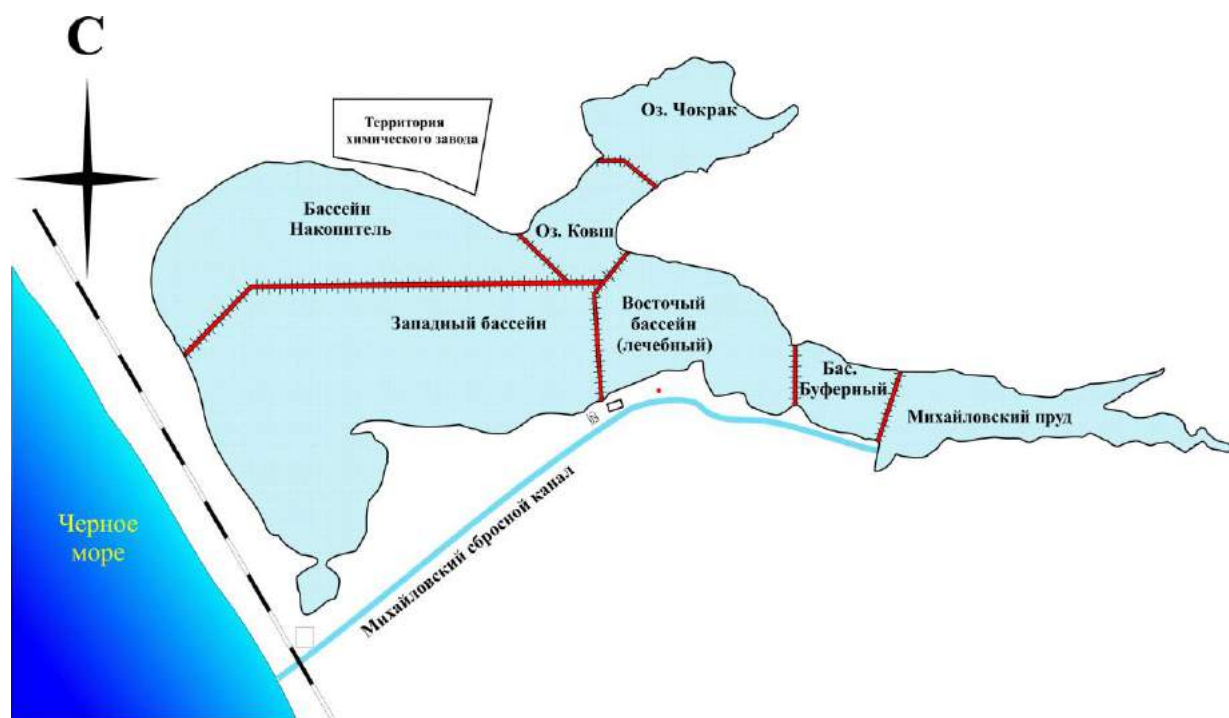


Рис.1.1 Система бассейнов Сакского соленого озера

В Восточный бассейн ежегодно поступает в среднем 156 тыс. м^3 грунтовых вод. На графиках сравнения объема притока грунтовых вод и выпадения атмосферных осадков видно, что объем притока грунтовых вод не зависит от выпавших осадков, следовательно, источником поступления большого количества сточных вод в водоем является техногенный фактор: повышение общего объема грунтовых вод за счет стоков с полей орошения и населенных пунктов (рис.1.2). [7]

В результате подпитки с сельскохозяйственных земель на южном побережье и дачно-огороднических участков происходит изменение гидрохимических характеристик грунтовых

вод, разгружающихся в котловине озера. Следовательно, грунтовые воды, поступающие в Сакское соленое озеро, являются транзитной средой при переносе загрязняющих веществ в водоем [1].

Аналогичная ситуация наблюдается и на Западном бассейне Сакского соленого озер

Гидроминеральные ресурсы озера

На сегодняшний день Сакское месторождение рапы и лечебных грязей является главной гидроминеральной сырьевой базой Крыма и Украины [21]. Запасы лечебных грязей Сакского месторождения оценены в 0,45 м³ – в Восточном бассейне и 3,60 м³ – в Западном (протокол подсчета запасов ГКЗ 3 629 от 7.11.2001 г.). Объем покровной рапы равен 1,27 млн. м³ – в Восточном бассейне и 3,29 млн. м³ – в Западном [2].

Благодаря непрерывному воздействию на озеро различных природных факторов в течение нескольких тысячелетий, на сегодняшний день Сакское соленое озеро является месторождением иловых сульфидных грязей и рапы

На протяжении нескольких тысячелетий озеро испытывало влияния специфических природных факторов, которые способствовали образованию и накоплению донных отложений. Все природные факторы, влияющие на образование Сакского соленого озера и на протекающие в нем процессы грязеобразования можно разделить на две категории: постоянные и переменные.

К постоянным природным факторам относятся:

- геоморфологические;
- геологические;
- тектонические.

К переменным природным факторам относятся:

- гидрогеологические;
- климатические;

- биологические.

Все перечисленные природные факторы, оказывают совместное воздействие на процесс образования Сакского соленого озера и не являются взаимозаменяемыми, то есть, при нарушении влияния одного из факторов (в результате природных изменений или антропогенного вмешательства) связанные с ним процессы замедляются.

Влияние постоянных факторов измеряется столетиями, и результат их воздействия проявляется в специфических (характерных только для данного района) сложных геологических и гидрогеологических процессах, которые около 5 тыс. лет назад положили начало образованию Сакского соленого озера: образование перемычки, отделяющей водоем от моря и обеспечение особого гидрологического режима, необходимого для процессов соленакпления и грязеобразования. [3]

Воздействие переменных во времени природных факторов на Сакское соленое озеро менее растянуто во времени, и результаты их воздействия (положительного или отрицательного) можно проследить даже в течение одного сезона: изменение минерализации озера, смена вегетационного периода, у микроорганизмов, заселяющих водоем, анабиозом и т.д.

Благодаря непрерывному воздействию на озеро различных природных факторов в течение нескольких тысячелетий, на сегодняшний день Сакское соленое озеро является месторождением иловых сульфидных грязей и рапы.

Процесс грязеобразования – сложный природный физико-химический и микробиологический процесс, связанный с деятельностью микроорганизмов и водорослей, а также процессов химического превращения веществ [3].

Из-за изменения воздействия переменных факторов в течении года, процесс грязеобразования в разные годы шел по-разному. Что хорошо просматривается на поперечном разрезе грязевой залежи: переход от светлых полосок к более темным и наоборот свидетельствует о разном накоплении донных осадков в разные годы. Было подсчитано, что

до начала интенсивной промышленной эксплуатации водоема, в год, в среднем, образовывалось около 1,5 мм лечебной грязи [3], а в 90-х годах прошлого столетия интенсивность грязеобразования колебалась в пределах 0,8 – 0,9 мм в год (по подсчетам проф. Костикова И.Ю.). В некоторые годы процесс грязеобразования сильно замедлялся или полностью прекращался (например, после размыва буферной дамбы в 1947 г, во время активной деятельности Сакского химического завода 80 – 90-х годах) [4].

Техногенное воздействие на Сакское озеро еще на конце IX века привело к усиленной садки гипса в лечебной части озера, в результате чего на дне озера начала образовываться гипсовая корка. На сегодняшний день практически вся нетронутая грязевая залежь в восточном бассейне покрыта толстым слоем гипсовых отложений.

С одной стороны, гипсовая корка необходима для нормального протекания процессов грязеобразования в восточном бассейне. Она выступает своеобразным буфером между биологической зоной, в которой ведут активную деятельность целый ряд микроорганизмов, и между агрессивной средой озера (минерализация рапы в летние месяцы достигает до 180 г/л). Но с другой стороны, мощный слой гипсовой корки мешает осуществлять добычу лечебной грязи [1]. Поэтому в настоящее время западный бассейн озера является перспективным по добычи кондиционной грязи и рапы лечебной грязи.

Происхождение и природа грязей

Десятки тысяч лет назад на месте нынешнего Сакского лечебного озера было Море, великая река, вечное солнце. Еще колебались земные недра, рождались горы, умирали вулканы, бронтозавры и трилобиты населяли сушу и воду, но уже тогда начинались таинственные процессы создания чудодейственного бальзама. Под воздействием жаркого солнца, соленого моря. Удивительного воздуха, невидимой жизни бактерий создавался этот волшебный дар природы – лечебная сакская грязь. [1]

Катила свои вечные воды река Лета, тысячелетия сменяли друг друга, образовавшаяся котловина озера постепенно отделялась от моря песчаной косой, и жизнь поколений лиманной фауны (моллюсков, рачков, водорослей) то зарождалась весной, то умирала осенью, образуя донные осадки, которые с течением времени достигли многометровой толщины.

В Сакском озере постоянно происходит грязеобразование - очень сложный и длительный процесс. В нем, кроме частиц глины, песка, минеральных солей, остатков растительных и животных организмов, участвуют различные микроорганизмы, жизнедеятельность которых определяет ряд важных лечебных свойств грязи. В одном грамме иловой грязи содержится несколько миллиардов микроорганизмов, благодаря которым образуются биологически активные соединения, такие как оксиды железа, медь, кобальт, аминокислоты, витамины и другие вещества.

Лечебные свойства грязи

Сакская грязь - эластичная, маслянистая, черная, с запахом сероводорода. По консистенции и пластичности напоминает крем. В ее состав входят вода, растворимые соли натрия, калия, кальция, магния, нерастворимые соединения (окислы железа, калия, кальция, магния и другие), органические вещества (углеводы, жиры, нафтеновые кислоты и другие), различные микроэлементы (итрий, иттербий, ванадий и другие). Установлено также присутствие в лечебной грязи гормонов, витаминopodobных (каротин), фолликулоподобных, пенициллиноподобных, гуминовых, битуминозных и других веществ. Содержит она и так называемые биогенные стимуляторы - вещества, усиливающие жизнеспособность организма, его сопротивляемость болезням. Лечебная грязь обладает антимикробными свойствами, то есть способностью задерживать или прекращать рост и развитие многих болезнетворных микробов; грязь насыщена сероводородом. [9]

Активное воздействие на организм человека оказывают все компоненты и свойства грязи: физические, химические, биологические. Под влиянием грязелечения происходят

сложные процессы в нервной системе больного, эндокринных железах, в крови. В организме активизируются силы, способные победить болезнь.

Исследование свойств лечебной грязи и рапы Сакского озера, разработка режима питания водоема морской водой связаны с именами видных русских и советских ученых: А. А. Вериги, Е. С. Бурксеры, А. А. Двойченко, П. А. Кашинского, Б. В. Перфильева, С. А. Щукарева, А. И. Дзенс-Литовского.[8]

Только что добытая из озера грязь обычно жидкой консистенции, поэтому она в течение 1,5-2 месяцев уплотняется в бассейнах и лишь после этого используется для процедур. Отработанная грязь сбрасывается в специальные бассейны для регенерации (восстановления).

В грязелечебницу подается смесь из регенерированной и свежей озерной грязи. Она перемешивается до однородной массы и подогревается паром до +45°C в нагревательных машинах. Для процедур отпускается грязь меньшей температуры (+40-+42°C) в соответствии с назначением. Грязь оказывает разностороннее действие на основные функции и системы человека: дыхание, кровообращение, обмен веществ и выделение. Уникальное сочетание органоминерального комплекса, микроэлементов, соленасыщенного раствора, биологически активной органики и газового фактора во взаимосвязи с тепловым или электрическим воздействием оказывает противовоспалительный, антибактериальный, рассасывающий эффекты с усилением обменных процессов на пораженных болезнью участках тела. Под влиянием грязи на иммунную систему человека активизируются защитные силы организма, способствующие выздоровлению.

Высокоминерализованной сульфидной грязью соленых водоемов называют сакскую грязь курортологи и гидрогеологи. С бальнеологической же точки зрения, это самый сложный органоминеральный комплекс, содержащий органические вещества активной природы, минеральные соли, живые микроорганизмы, бактерии, грибки, водоросли. Взаимодействуя и взаимопроникая друг в друга, создают они уникальный коктейль – лечебную грязь, в процессе своей жизнедеятельности выделяя массу биологически активных веществ. Именно этим

обязаны мы чуду исцеления сакскими грязями, когда больным возвращается утраченное здоровье, лежащие встают на ноги, бесплодные обретают счастье материнства. [10]

По мнению ученых и специалистов-биологов при правильном биохимическом режиме экосистемы Сакского озера, грязеобразование происходит и сегодня. Общие запасы лечебных грязей месторождения огромны и достигают 4,5 млн. кубических метров. Этот неистощимый потенциал гидроминеральных ресурсов легендарного Сакского озера будет нести людям радость здоровья еще многие столетия.

Значение сакской грязи в медицине

Сакская грязь применяется при следующих болезнях:

1. Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани, ревматоидный артрит, остеоартрит, межпозвоночный остеохондроз, оститы, периоститы.

2. Остаточные явления травм и интоксикаций центральной нервной системы.

3. Заболевания периферической нервной системы. Шейно-лопаточный радикулит, невралгию межреберных нервов, пояснично-крестцовый радикулит.

4. Гинекологические заболевания: хронические аднекситы, функциональную недостаточность яичников на почве перенесенного воспаления или недоразвития матки, бесплодие на фоне гормональной недостаточности и послевоспалительных процессов, хронические метроэндометриты, кольпиты, загиб матки.

5. Заболевания мужских половых органов: простатит, эпидидимит, орхит, бесплодие.

6. Заболевания ЛОР-органов: хронический гаймориты, фронтиты, тонзиллиты, невриты слуховых нервов; частые ОРВИ.

7. Болезни кожи: псориаз, красный плоский лишай, экзема, ихтиоз, рубцы после ожогов, ранений и хирургических вмешательств.

8. Заболевания зубочелюстной системы: парадонтоз, гингивит, пародонтит.

9. С помощью грязевых тампонов - воспалительные заболевания матки и яичников, маточных труб, спаечные болезни органов малого таза, неправильное положение матки(загибы), осложнения после хирургических вмешательств, женское бесплодие, хронический простатит, орхит, импотенция. [9]

Противопоказания для грязелечения: острые воспалительные процессы, туберкулез, опухоли, миомы, фибромиомы, кисты яичников, нефриты, нефроз, постинфарктное состояние, гипертоническая болезнь 2 и 3 стадии, геморрой, расширение вен на ногах. [6]

Характеристика микроорганизмов

Гнилостные аэробы, выделяющие H_2S

В МПЖ посев производят уколом внутрь столбика среды. Посевы выращивают 5-7 сут при комнатной температуре. Микробы, обладающие протеолитическими свойствами, разжижают желатин. Микроорганизмы, не обладающие протеолитической способностью, растут в МПЖ без его разжижения.

В посевах на свернутой кровяной сыворотке протеолитические микроорганизмы также вызывают разжижение, а микроорганизмы, не обладающие этим свойством, не изменяют ее консистенцию.

При изучении протеолитических свойств определяют также способность микроорганизмов образовывать индол, сероводород, аммиак, т. е. расщеплять белки до конечных газообразных продуктов.

Гнилостные бактерии имеют очень широкое распространение. Они встречаются в почве, воде, воздухе, кишечнике человека и животных, на пищевых продуктах. К этим микроорганизмам относятся спорообразующие аэробные и анаэробные палочки, пигментообразующие и факультативно-анаэробные бесспорные бактерии.

Сульфатредуцирующие бактерии

Сульфатредуцирующие бактерии могут существовать при температуре 25 - 60 С, однако, по некоторым литературным данным, они не погибают и при температуре 80 С.

Сульфатредуцирующие бактерии, как уже отмечалось, проявляют себя при пониженной минерализации и значительном количестве в воде сульфатов. При восстановлении сульфатов в осадок выпадает кальцит и выделяется сероводород, последствием чего является интенсивная коррозия оборудования.

Сульфатредуцирующие бактерии - анаэробные гетеротрофы извлекают кислород из сульфатов; они всегда присутствуют в морских водах.

Сульфатредуцирующие бактерии являются хемолитогетеро-трофами, они не способны к автотрофной ассимиляции диоксида углерода и для роста нуждаются в органических веществах. Они отличаются высокой жизнестойкостью в экстремальных условиях. Оптимальными условиями существования большинства коррозионно-активных культур этих бактерий являются рН 6,0 - 8,0, температура 25 - 40 С при потенциале корродирующего металла от 0,0 до 0,4 В. С понижением температуры от 30 до 5 С содержание бактерий уменьшается в 1,5 раза

Тионовокислые микроорганизмы

Тионовые бактерии — группа подвижных палочковидных бесспорных бактерий, хорошо развивающихся при окислении восстановленных соединений серы. Типичные их представители являются автотрофными микроорганизмами. Отдельные представители рода *Thiobacillus* различаются по своим физиологическим особенностям, распространению и геохимической роли. Бактерии *Th. thioparvus* являются аэробами и развиваются в слабощелочной и слабокислой среде, энергично окисляя сероводород и гипосульфит до серы, которая отлагается в среде. Бактерии *Th. denitrificans* способны развиваться без кислорода, если в среде имеются нитраты. Бактерии *Th. thiooxidans* и *Th. ferrooxidans* являются аэробами

и развиваются только в сильноокислой среде при рН ниже 4, причем *Th. thiooxidans* интенсивно окисляет серу до серной кислоты, а *Th. ferrooxidans* окисляет многие сульфиды и закисное железо и участвует в окислении сульфидных руд.

Железобактерии

Железобактерии, сборная группа микроорганизмов, способных как окислять соединения двухвалентного железа в трёхвалентное, так и осаждать на поверхности и внутри клеток гидроксиды железа. Относятся к хемосинтезирующим бактериям. Среди железобактерий имеются как автотрофы (*Галлионелла*, некоторые *тиобациллы*), так и гетеротрофы (некоторые бактерии рода *лепто-трикс*, магнитные бактерии). *Галлионеллы* – подвижные бактерии (имеют по одному полярному жгутику) бобовидной формы, на вогнутой стороне которых образуются нити гидроокислов железа; обитают в минеральных железосодержащих источниках, дренажных трубах, некоторых озёрах, меднорудных отвалах и др. *Тиобациллы* – подвижные палочковидные бактерии; встречаются в кислых серных источниках, некоторых озёрах, в дренажных водах угольных шахт и др. Используются в бактериально-химическом выщелачивании ряда металлов из бедных руд в целях увеличения добычи (напр., для получения меди и урана). Отрицательное действие – усиление коррозии трубопроводов и металлического оборудования в шахтах, разрушение каменных строений и железобетонных сооружений.

Гетеротрофные железобактерии распространены в водоёмах с нейтральной или слабощелочной реакцией среды. Участвуют в образовании ржавых осадков (охры) в железистых источниках, дренажных группах, болотах (болотные руды) и заболоченных почвах. Отрицательное действие – засорение и закупорка трубопроводов

РАЗДЕЛ 1.

Объект, методы и условия проведения исследования

1.1. Объект исследования

Объект исследования – Восточный бассейн Сакского озера.

Предмет исследования грязь иловая сульфидная Восточного бассейна Сакского озера.

Материал для исследований отбирали в центре Восточного бассейна – точка КП

Исследования проводились в течение 1 года, в лаборатории биологических исследований Крымской гидрогеологической режимно-эксплуатационной станции (ГГРЭС), под руководством начальника ЛБИ Сиротиной Натальи Олеговны (см. фото1., приложение А).

1.2. Методы культивирования эколого-трофических групп микроорганизмов на питательной среде

Первой и неполной, но широко применяемой характеристикой микрофлоры является общее микробное число.

Для полного количественного и качественного выявления эколого-трофических групп, в стерильных флаконах из исследуемой пробы готовят 6 последовательных десятикратных разведений (до 10^{-6}), применяя для разведения стерильную водопроводную воду. Приготовленные разведения используются для посевов на селективные питательные среды по 1 мл. (см. фото 3,4, приложение А)

Культивирование проводится в бактериологических пробирках (см. фото 2, приложение А). В случае проведения исследований в условиях стационарных лабораторий для каждой эколого-трофической группы определяются два показателя:

- А) Интенсивность развития;
- Б) Количество микроорганизмов.

1.2.1. Определение гнилостных бактерий, выделяющих сероводород, аммиак.

Сухой питательный бульон – 15 г;

Дистиллированная вода - 1000 см³.

Навеску порошка размешивают в 1 дм³ дистиллированной воды, доводят до кипения, кипятят 2-3 минуты, фильтруют сквозь ватный тампон. Разливают пробирки по 10 см³, автоклавуют на протяжении 20 минут при давлении 1 атм (121 С). В пробирку со средой добавляют по 1 см³ исследуемого материала нужного разбавления. Для создания анаэробных условий заливаем стерильным вазелиновым маслом (см. фото 5(A), приложение А).

В результате роста микроорганизмов на питательном бульоне, в процессе разложения белков должен выделиться аммиак, сероводород. Для индикации после посева исследуемого материала, под резиновые пробки, помещают фильтровальную бумагу, пропитанную 1) уксуснокислым свинцом, 2) лакмусовой (красной) бумагой (см фото 6,7 приложение А). При выделении сероводорода бумажная полоска 1 – чернеет, при выделении аммиака полоска 2 – синееет. Результат учитывают при появлении знаков роста, начинающихся с 5-тых до 60 суток. (см.фото 5(Б), приложение А)

1.2.2. Определение сульфатредуцирующих микроорганизмов на среде Штурм

Калий фосфорнокислый двузамещенный – 0,5 г;

Магний сернокислый – 1,00 г;

Аммоний сернокислый – 4,0 г;

Сернокислый кальций – 0,5 г;

Кальций молочнокислый – 3,5 г;

Соль Мора – 0,5 г;

Дистиллированная вода – 1000 см³.

Соль Мора стерилизуют отдельно и вводят в среду перед посевом. После посева заливают стерильным вазелиновым маслом. За счет выделения сероводорода и появления

сульфата железа во время развития десульфлирующих бактерий происходит появление почернений среды и формирования черного осадка на дне и стенках пробирок.

1.2.3. Определение тионовых бактерий на среде Бейеринка

Натрий фосфорнокислый двузамещенный – 0, 2 г

Аммоний хлористый – 0, 1 г

Железо сернокислое – следы

Хлористый магний – 0,1 г

Натрий дваугдекислый – 1,0 г

Натрий тионосльфат – 5,0 г

Вода водопроводная – 1000 мл

Рост тионовых бактерий проявляется помутнением среды и образованием на ее поверхности тонкой пленки. Со временем пленка уплотняется, муть оседает желтым осадком на дне и стенках пробирок, а среда проясняется. (см. фото 8-9 приложение А)

1.2.4. Определение железooksисляющих бактерий

Сернокислый аммоний – 0,5г

Азотнокислый натрий – 0,5г

Фосфорнокислый калий двузамещенный – 0,5г

Сернокислый магний – 0,5г

Цитрат натрия – 10г

Сахароза – 2г

Сернокислый магний – 0,75г

Дистиллированная вода – 1000мл

Железooksисляющие бактерии создают ржавые колонии (см. фото 10-11., приложение А).

1.2.5. Определение интенсивности развития микроорганизмов

Интенсивность развития оценивается в баллах. Метод основывается на определении термина появления роста микроорганизмов на 5, 10, 20, 40, 60 суток. Появления роста на 5 сутки соответствует 5 баллам, на 10-4, на 20-3, на 40-2, 60-1 балл.

Количество микроорганизмов данных эколого-трофических групп на питательных средах определяются наличием роста, что появились в последних разведениях исследуемой пробы и считаются на 60 сутки. При этом исходя из того, что в данной пробирке находится одна микробная клетка данной физиологической группы.

РАЗДЕЛ 2.

Результаты исследований

Рассматривая итоги микробиологических исследований минеральных ресурсов Восточного бассейна Сакского озера в 2018 году, следует отметить, что сульфатредукция является одним из наиболее важных процессов, происходящих в лечебных грязях, поскольку образующиеся сульфиды взаимодействуют с железом, образуя гидрат сернистого железа – гидротроилит, ценный продукт в бальнеологическом отношении. Развитие сульфатредуцирующей группы возможно только в анаэробных условиях при наличии достаточного количества сульфатов и органического вещества.

Наличие в донных отложениях большого количества органических веществ, в том числе белков, подтверждается значительной численностью гнилостных аэробов и анаэробов, выделяющих сероводород, а также аэробов, выделяющих аммиак.

Аммиак, выделяемый гнилостными микроорганизмами, подщелачивает грязевой субстрат, создавая благоприятную среду для развития большинства микроорганизмов, а также может быть преобразован нитрифицирующими и денитрифицирующими бактериями.

Сероводород и другие соединения серы (тио- и тетросоединения) окисляются тионовыми бактериями до серной кислоты, сульфатов и серы.

Данные группы обнаруживаются в течение года в достаточном количестве (10^4 - 10^6 КОЕ/г) и имеют высокую интенсивность развития (4-5 баллов).

Образовавшиеся сульфаты восстанавливаются сульфатредуцирующими бактериями до сульфидов. Данная группа бактерий обнаруживается в течение всего года в количестве 10^2 - 10^3 КОЕ/г. Интенсивность развития колебалась от 2 до 5 баллов.

Железобактерии окисляют углекислые соли закиси железа (FeCO_3) до гидрата окиси железа ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) (табл.2.1)

Сульфиды и гидрат окиси железа легко взаимодействуют, образуя гидрат сернистого железа – гидротроилит, важный для грязелечения.

Таблица 2.1

Дата отбора	Микроорганизмы						
	Сульфат-редуцирующие	Железо-бактерии	Тионовые	Гнилостные, выделяющие			
				аэробы		анаэробы	
				H ₂ S	NH ₃	H ₂ S	NH ₃
06.09.17Г	10 ² ₂	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₂	10 ⁵ ₅	10 ¹ ₅
03.10.17Г	10 ³ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ³ ₅	10 ³ ₅	10 ³ ₅	10 ¹ ₅
07.11.17Г	10 ² ₅	10 ⁶ ₄	10 ⁶ ₄	10 ⁵ ₄	10 ¹ ₁	10 ² ₄	10 ³ ₄
04.12.17Г	10 ² ₂	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₃	10 ⁴ ₅	10 ³ ₅
15.01.18Г	10 ² ₂	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ² ₃	10 ⁶ ₂	10 ⁵ ₅
07.02.18Г	10 ² ₄	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₄	10 ² ₅	10 ⁶ ₃	н/в
06.03.18Г	10 ² ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁴ ₅	10 ⁴ ₅	10 ¹ ₅	10 ² ₅	н/в
03.04.18Г	10 ³ ₄	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁴ ₅	10 ⁴ ₅	10 ⁴ ₄	10 ⁴ ₄
14.05.18Г	10 ² ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ³ ₅	10 ³ ₅	10 ⁴ ₅	10 ¹ ₅
04.06.18Г	10 ³ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁴ ₅	10 ⁶ ₅	10 ³ ₅	10 ² ₅
02.07.18Г	10 ² ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₄	10 ⁶ ₅	10 ⁴ ₄	н/в
01.08.18Г	10 ² ₅	10 ⁶ ₅	10 ⁶ ₄	10 ⁶ ₃	10 ⁶ ₄	10 ⁴ ₅	10 ⁵ ₃

ВЫВОДЫ

1. Гнилостные аэробы и анаэробы обеспечивают минерализацию белков, насыщая среду обитания сероводородом и аммиаком. Сероводород окисляется тионовыми бактериями до сульфатов и серы.
2. Достаточное количество сульфатов и органических веществ, а также наличие анаэробных условий обеспечивает развитие сульфатредуцирующих микроорганизмов, восстанавливающих сульфаты до сульфидов.
3. Группа железобактерий подготавливает соединения железа для дальнейшего преобразования.
4. Сульфиды, полученные при сульфатредукции, взаимодействуют с гидратом окиси железа (преобразованном железобактериями) с образованием гидрата сернистого железа, ценного продукта в бальнеологическом отношении.
5. На основании вышеперечисленного можно говорить о продолжающихся по сей день процессах образования сульфидных грязей и их пригодности к бальнеологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги микробиологических исследований можно говорить об интенсивной жизнедеятельности микроорганизмов в Восточном бассейне Сакского озера, о высокой биохимической активности процессов трансформации органических и минеральных веществ, обогащающих рапу и иловые отложения биологически активными веществами, о поддержке кондиций минерального сырья и о пригодности их к применению в бальнеологической практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Косовская А.Ф. Саки: Путеводитель. – Симферополь: Таврида, 1984.
2. Косовская А.Ф. Сравнительная характеристика восточной и западной части Сакского озера.//Международная научно-практическая конференция, посвящ. 75-летию Сакской ГГРЭС «Проблемы рациональной эксплуатации и использования курортных ресурсов». Тез. докл.- Симферополь, 2001.
3. Чабан В.В., Сулова Н.А. Исследование экологической обстановки Сакского солёного озера.// Сборник научных трудов, выпуск 17.- Симферополь: «Национальная академия природоохранного и курортного строительства», 2006.
4. Чабан В.В., Сулова Н.А. Исследование сезонного изменения экологической обстановки Сакского солёного озера.// Вестник «Крымское качество». Научно-технический сборник. Выпуск №1(9), 2007.
5. Чабан В.В. Особенности расположения гипсовых отложений в восточном бассейне Сакского солёного озера.// Сборник научных трудов, выпуск 17.- Симферополь: «Национальная академия природоохранного и курортного строительства», 2007.
6. Хохлов В.А. Научная летопись Сакского озера – Симферополь, 2001.
7. Фондовые материалы ГГРЭС.
8. Ферсман А.Е. К геолого-минералогическим обследованиям Сакского озера.- Петроград: 1-я государственная типография, - 1919.
9. Фондовые материалы Сакского краеведческого музея.
10. ГОСТ 18963. р.9-4.1.12.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А



Фото 1. Крымская гидрогеологическая режимно - эксплуатационная станция



Фото 2. Подготовка посуды для посева



Фото 3. Приготовление первичного разведения



Фото 4. Приготовление первичного разведения



Фото 5(А). Определение гнилостных бактерий на 5 сутки



Фото 5(Б). Определение гнилостных бактерий на 20-тые сутки

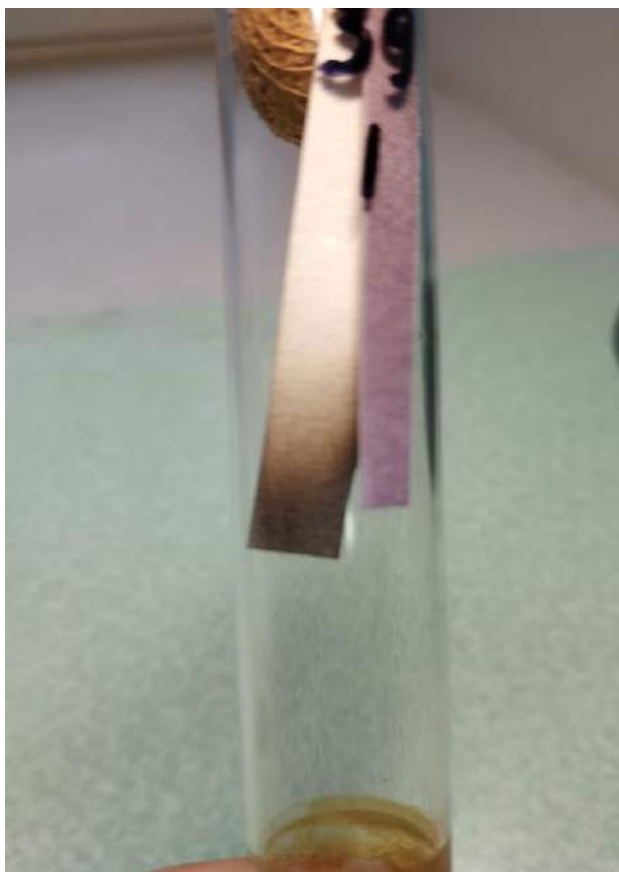


Фото 6 . Гнилостные, выделяющие H_2S и NH_3



Фото 7. Гнилостные, выделяющие индол



Фото 8-9. Определение тионовых бактерий на среде Бейеринка



Фото 10-11. Определение железобактерий

