

Микрофлора транспортёрно-моечной воды сахарных заводов

В.А. СОТНИКОВ, ген. директор, д-р техн. наук
Т.Р. МУСТАФИН, канд. биолог. наук, зав. лабораторией
А.В. СОТНИКОВ, вед. менеджер
ИП Сотников В.А. («Предприятие ПромАсептика»)
(e-mail: swa862@mail.ru)

Введение

Из всех технологических потоков сахарного завода транспортёрно-моечная вода (ТМВ) наиболее активно подвергается микробиологическому поражению. По данным многочисленных авторов, уровень этого заражения составляет от 10^4 КОЕ/см³ (в осенне-зимний период) до 10^8 КОЕ/см³ (в весенне-летний период) [1, 2].

Микробиологический пейзаж ТМВ представлен широким спектром микроорганизмов: аэробные, факультативно анаэробные и анаэробные; мезофильные, термофильные и психрофильные; спорообразующие и вегетативные бактерии, а также плесени и несовершенные грибы (дрожжи).

В последнее время сахаропроизводители стали уделять пристальное внимание микробиологическому состоянию производства и, в частности, уровню инфицированности ТМВ, так как потребители ужесточили требования к микробиологическому качеству сахара и сопутствующих продуктов производства (жому и мелассе). С другой стороны, сахаропроизводители с целью улучшения технико-экономических показателей производства идут по пути снижения экологической нагрузки, а также внедряют технологии водо- и энергосбережения (снижение модуля оборотной воды, внедрение технологии отстаивания ТМВ с применением флокулянтов и т. п.). На наш взгляд, эти две тенденции находятся в некотором противоречии, когда исходный низкий уровень загрязнённости ТМВ является обеспечительным фактором низкой обсеменённости всего технологического потока производства и, напротив, снижение водного коэффициента влечёт за собой неизбежное увеличение уровня обсеменённости ТМВ, а следовательно, всего последующего технологического потока производства.

Изучая микробиологические аспекты производства, нами, а также российскими и украин-

скими исследователями [3, 4] было отмечено неуклонное возрастание уровня инфицированности ТМВ на предприятиях. Если 10–15 лет тому назад общее микробное число (ОМЧ) ТМВ составляло 10^7 – 10^8 КОЕ/см³, то в настоящее время этот показатель достигает величин в несколько десятков миллиардов. Это обстоятельство объясняет возрастание уровня инфицированности предприятия в целом, а также избыточного стойкого пенообразования не только ТМВ, но и диффузионного сока, что вынуждает увеличивать дозировки антисептирующих препаратов и пеногасителей.

Другим грозным следствием высокой обсеменённости ТМВ является высокая вероятность формирования в ней анаэробной микрофлоры. В литературе [2] указывается, что попадание в ТМВ тёплой барометрической воды провоцирует процесс брожения с выделением сероводорода и аммиака, т. е. в ТМВ формируются популяции сульфатредуцирующих и аммонифицирующих бактерий.

Сероводород (H_2S) очень токсичен. Смертельная его концентрация в воздухе очень мала – всего 0,1 %. В таком количестве этот газ может привести человека к летальному исходу за 10 минут. Стоит лишь немного увеличить концентрацию – и смерть наступает мгновенно, после первого же вдоха. В Российской Федерации предельно допустимая максимально-разовая концентрация сероводорода в атмосферном воздухе (ПДК м. р.) установлена на уровне порога запаха и составляет 0,008 мг/м³.

Аммиак (NH_3) относится к умеренно-токсичным химическим веществам, однако в больших концентрациях он может стать сильным ядом для человека. Предельно допустимая концентрация аммиака в воздухе рабочей зоны производственного помещения (ПДК р. з.) составляет 20 мг/м³. Ощущение запаха аммиака свидетельствует о превышении допустимых норм.

Биохимические пути распада органических веществ ТМВ под воздействием аэробной и анаэробной микрофлоры представлены на рис. 1.

Традиционные спутники сахарного завода — молочнокислые, пропионовокислые и маслянокислые микроорганизмы активно превращают сахар (содержание сахарозы в ТМВ может превышать 0,2 %) в молочную и другие органические кислоты, что приводит к резкому закисанию ТМВ. К этой же группе молочнокислых микроорганизмов относится наиболее опасный враг сахарного завода *Leuconostoc* и слизеобразующие бактерии, которые также в избытке обнаруживаются в ТМВ и формируют в ней слизистые декстрановые и левановые отложения, переплетённые мицелием грибной микрофлоры.

Молочная кислота, отсутствие кислорода воздуха (в застойных зонах) и повышенная температура ТМВ провоцируют развитие в ней сульфатредуцирующих бактерий. Для активного роста этих бактерий важно присутствие в ТМВ сульфат-ионов, которые также в достаточном количестве присутствуют в ТМВ (от 7,4 до 101 мг/л [4]). Помимо того, что эти бактерии выделяют ядовитый газ — сероводород, они вызывают

биокоррозию транспортёрно-моечного оборудования (атомы железа превращаются в сульфид железа).

Аммонифицирующие бактерии, обитая в застойных зонах, активно разлагают белок с выделением не только токсичного газа аммиака, но и других зловонных веществ (индол, скатол, меркаптан), что придаёт ТМВ характерный запах гниения. Эти же бактерии разлагают белковые вещества до пептидов, которые приводят к активному пенообразованию. Пенообразованию способствуют не только пептиды, но и растворимая клетчатка свёклы. Активными «растворителями» клетчатки являются спорообразующие бактерии. Дрожжи, сбраживая сахарозу, помимо углекислого газа и спирта выделяют ПАВ, которые придают пене наибольшую стойкость. Именно бурное выделение газов при дрожжевом брожении может вызвать пробкование в дифаппаратах (при низкой температуре диффузии).

В последнее время у производителей пивобезалкогольной продукции (особенно у компаний «Пепси-Кола» и «Кока-Кола») возросли требования к микробиологическому качеству закупаемого сахара. Эти производители, помимо ужесточения требований по

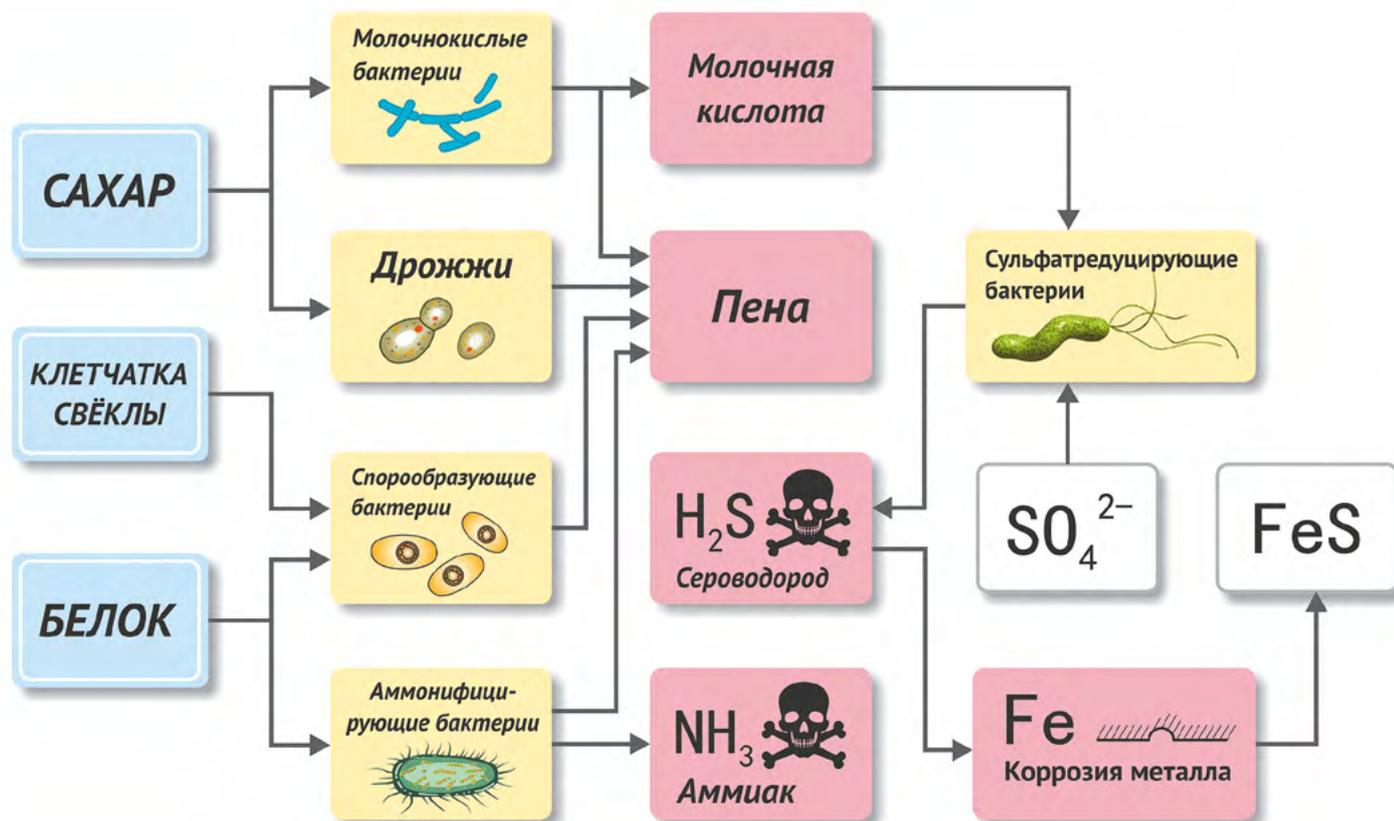


Рис. 1. Биохимия ТМВ

ОМЧ и количеству молочнокислых микроорганизмов в сахаре, предъявляют дополнительные требования по отсутствию в продукте термоустойчивых ацидофильных бактерий (ТАБ), идентифицируемых как гваяколпродуцирующие микроорганизмы. В частности, речь идёт о спорообразующих микроорганизмах из рода *Bacillus*, а именно об *Alicyclobacillus acidiphilus*. Бактерии из этого рода в изобилии обитают в почве, воде и пыльном воздухе. Поэтому мероприятия по предотвращению проникновения этих микроорганизмов в готовый продукт — сахар — включают в себя, в первую очередь, способы и методы по очистке воздуха от микроорганизмов в отделении сушки и транспортирования сахара. Во-вторых, источником спорообразующих микроорганизмов в сахаре может быть ТМВ, так как споры, погибающие только при температуре выше 120 °С, попадают из ТМВ в диффузионный сок и далее беспрепятственно могут проходить по всей технологической цепочке (известь их также не убивает) вплоть до кристаллического сахара.

Ранее повсеместно для обеззараживания ТМВ использовали комбинированные реагенто-физические методы, которые включали в себя обработку ТМВ известью (до рН 9–11,5) с последующим её хлорированием (хлорная известь, или гипохлорит натрия, или газообразный хлор) [4, 5]. В последнее время с целью повышения эффективности очистки ТМВ, помимо традиционного метода известкования, используют различные виды органических и неорганических коагулянтов (флокулянтов) [4]. Однако вышеприведённые мероприятия не обеспечивают в должной мере существенного подавления развития микрофлоры, поэтому рекомендуется дополнительно вводить в ТМВ различные антисептирующие реагенты (формалин, соли серебра, перманганат калия и т. п.).

У перечисленных выше методов, помимо неоспоримых достоинств, обнаруживается и ряд существенных недостатков.

Известкование вод до уровня рН 9,0–11,5 существенно снижает содержание взвешенных веществ, однако перещелачивание корнеплодов способствует растворению клетчатки свёклы и может привести к повышению уровня несахаров в диффузионном соке и снизить содержание СВ в отжатом жоме. Помимо того, известь стимулирует размножение лейконостака, что объясняет активное ослизнение ТМВ. Особенно активно эти процессы протекают в свёкле, поражённой слизистым бактериозом, или в подмороженной свёкле.

Относительно дешёвые хлорсодержащие препараты способны подавлять развитие значительной части микроорганизмов, но оказались практически бездейственными по отношению к дрожжам, лейконо-

стоку и слизиобразующим бактериям. Более того, потребители стали предъявлять повышенные ограничительные требования к остаточному содержанию хлора в жоме. То же самое можно сказать и в отношении формалина. Обесшляивающий эффект от дорогостоящих препаратов на основе перманганата калия и солей серебра достигается только в экономически неприемлемых дозировках.

На основании вышеизложенного, на наш взгляд, представляют интерес исследования, направленные на изучение качественного и количественного состава ТМВ сахарных заводов с целью создания технологии её эффективного антисептирования.

Несмотря на большое видовое разнообразие микроорганизмов, обитающих в ТМВ, мы изучали только те группы микроорганизмов, которые наносят наибольший ущерб производству, а именно молочнокислые, спорообразующие, гнилостные (аммонифицирующие), дрожжи и сульфатредуцирующие бактерии. Количественный учёт этих бактерий осуществлялся на дифференцированных средах: для молочнокислых — на МПА с мелом; для спорообразующих — на среде Дифко с предварительным прогревом пробы при 90 °С; для гнилостных — на желатиновой среде; для дрожжей — на среде Сабуро; для сульфатредуцирующей бактерий — на среде Постгейта. Общее количество бактерий — на среде МПА с добавлением сахарозы.

Микробиологический скрининг (рис. 2) выявил, что мажорной инфекцией ТМВ, отобранной из мочного бункера завода, являются спорообразующие бактерии (45 % от ОМЧ) в основном из рода *Bacillus* и *Clostridium*. Доля анаэробных микроорганизмов, к которым относятся сульфатредуцирующие и неко-

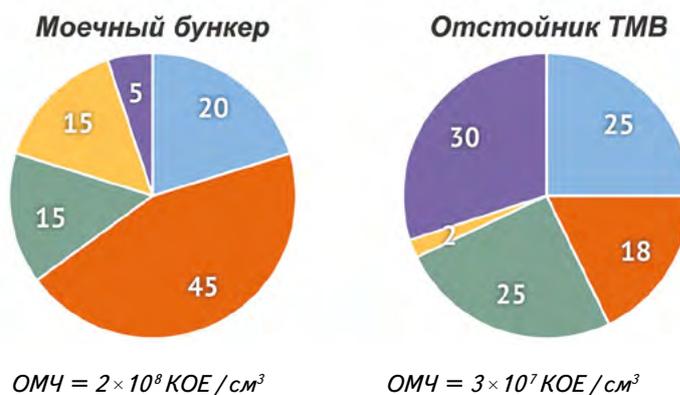


Рис. 2. Микробиологический скрининг ТМВ:
 ■ — молочнокислые микроорганизмы; ■ — спорообразующие микроорганизмы; ■ — гнилостные микроорганизмы;
 ■ — дрожжи; ■ — сульфатредуцирующие микроорганизмы

торые аммонифицирующие бактерии, относительно минимальна. Напротив, в пробах, изъятых из отстойников ТМВ, относительная численность анаэробных бактерий (сульфатредуцирующих) резко возрастает (до 30 % от ОМЧ), что может быть вполне объяснимо провокацией роста этих бактерий в условиях отсутствия кислорода воздуха, которые создаются в застойных и придонных зонах отстойника. Подтверждением тому служит очень высокая численность аммиак- и сероводородпродуцирующих микроорганизмов (свыше 55 % от ОМЧ) в пробах ТМВ, отобранных из устойчиво застойных зон (карманов) тракта подачи ТМВ.

При проведении микробиологического скрининга мы зафиксировали статистически достоверный факт повышенной (более чем в 10 раз) относительной численности сероводородпродуцирующих микроорганизмов в ТМВ, отобранных с заводов, расположенных в юго-восточной части России по сравнению с заводами, находящимися в центральной её части. Объяснением феномена активизации анаэробной микрофлоры в зависимости от географического расположения завода может быть предопределённая в этих регионах повышенная температура ТМВ.

Дальнейшие исследования были направлены на поиск и создание антисептирующего препарата, который должен эффективно подавлять развитие как можно большего числа представителей микрофлоры ТМВ, особенно анаэробную микрофлору. Учитывая специфику метаболизма сульфатредуцирующих, аммонифицирующих анаэробных бактерий и дрожжей нами был создан новый антисептирующий препарат под торговой маркой «Тетасепт».

С целью сравнительного изучения воздействия этого антисептика на микрофлору ТМВ были проведены «жёсткие» модельные эксперименты, где объектом исследований являлась ТМВ со следующими характеристиками (в мг/л): взвешенных веществ – 30000; общего азота – 20; сульфатов – 80; сахарозы – 2000; подщелачивание до рН 10,0–10,5 производили известковым молоком. В ТМВ дополнительно вносили 1 % мезги здоровой свёклы и 1 % сильно подгнившей свёклы. Для инициации роста сульфатредуцирующих бактерий в ТМВ вносили стальные пластины, очищенные от ржавчины, а пробы культивировали под слоем стерильного вазелинового масла.

Испытанию подвергались следующие антисептирующие препараты: формалин, гипохлорит натрия и «Тетасепт». Исследуемые антисептирующие препараты в одинаковых по действующему веществу концентрациях (100 мг/л) вносили в ТМВ и выдерживали при температуре 30 °С (в термостате) в течение четырёх суток. Контролем служила ТМВ без внесения антисептиков.

За ростом молочнокислых микроорганизмов следили по уровню снижения рН в ТМВ. Активность жизнедеятельности дрожжей оценивали по количеству выделившегося газа (CO_2) к концу эксперимента. Уровень пенообразования в пробах оценивали также к концу процесса эксперимента. Численность микроорганизмов в пробах определяли методом подсчёта выросших колоний на МПА (для оценки ОМЧ) и дифференцированных средах (для индивидуальных групп микроорганизмов).

Представленные на рис. 3 данные свидетельствуют о том, что даже в «жёстких» условиях эксперимента, когда начальная общая численность микроорганизмов составляла $2,5 \times 10^6$ КОЕ/см³ при благоприятной для роста микроорганизмов температуре 30 °С, закисание ТМВ удалось значительно предотвратить с помощью препарата «Тетасепт». Остальные исследуемые нами антисептики также подавляли жизнедеятельность этой микрофлоры, но недостаточно эффективно.

Далее необходимо было оценить сравнительный обеспложивающий эффект от антисептирующих препаратов на определённую группу микрофлоры, обитающей в ТМВ.

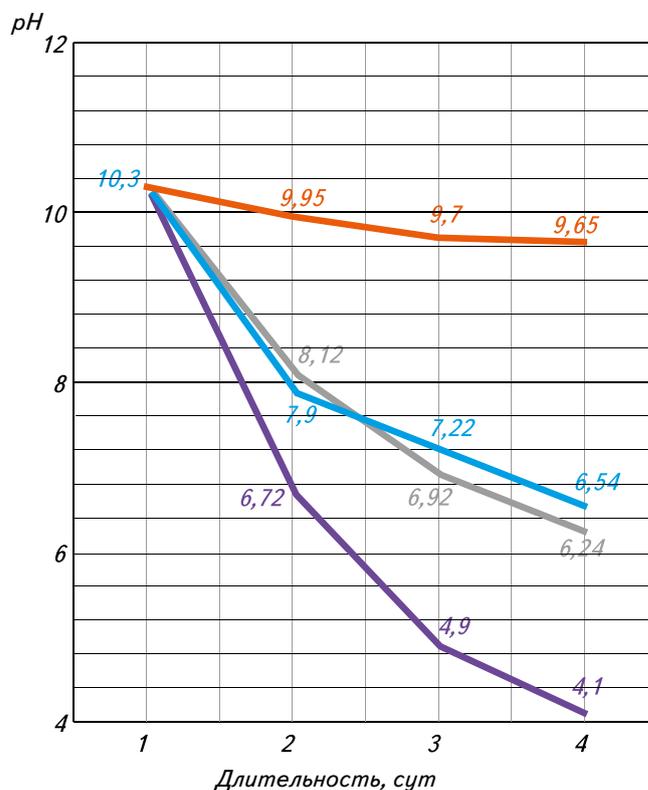


Рис. 3. Закисание ТМВ: ■ – контроль; ■ – гипохлорит натрия; ■ – формалин; ■ – «Тетасепт»

Обеспложивающий эффект антисептиков на микрофлору в целом и на спорообразующие бактерии в частности идентичен тому, который был получен в экспериментах с самозакисанием ТМВ: максимальное снижение численности этих микроорганизмов по сравнению с контрольным вариантом мы наблюдали только при использовании препарата «Тетасепт» (см. табл.). Так, ОМЧ снизилось с $2,7 \times 10^9$ до $7,7 \times 10^4$ КОЕ/см³, а численность спорообразующих бактерий — с $5,5 \times 10^4$ до $6,2 \times 10^2$ КОЕ/см³. Антисептирующий эффект от применения других препаратов был менее выражен.

Принципиально иную картину мы наблюдали, изучая воздействие антисептиков на отдельные группы микрофлоры. Гипохлорит натрия и формалин были неспособны уничтожить дрожжи: численность дрожжей в контрольном варианте была практически сравнима с таковой для опытных вариантов. Выявленный противодрожжевой эффект был выявлен только у препарата «Тетасепт» (снижение количества дрожжей с $8,4 \times 10^5$ до $2,7 \times 10^2$ КОЕ/см³). Ещё более разительный эффект мы наблюдали при изучении обеспложивающего воздействия исследуемых антисептиков на анаэробную составляющую микрофлоры ТМВ. Препарат «Тетасепт» практически полностью подавил сульфатредуцирующие и аммонифицирующие бактерии.

Напомним, что дрожжевая и анаэробная микрофлоры являются основной причиной газообразования в ТМВ. Эти бактерии способны активно выделять углекислый газ, сероводород, аммиак, водород и т. п. Поэтому нами были дополнительно проведены эксперименты по изучению способности антисептиков подавлять этот нежелательный процесс газовыделения в ТМВ. В экспериментах на 1 л ТМВ вносили исследуемые антисептики и культивировали при температуре 30 °С под слоем вазелинового масла.

По объёму выделившихся газов судили об активности газообразующей микрофлоры.

Как показали эксперименты (рис. 4), активность подавления процесса газообразования в ряду исследуемых антисептиков коррелировала с их антисептирующей способностью по отношению к анаэробной и дрожжевой микрофлоре. Кроме того, в ходе экспериментов был выявлен примечательный феномен, а именно способность препарата «Тетасепт» препятствовать процессу пенообразования, который был менее выражен при использовании формалина и гипохлорита (рис. 5).

Для объяснения возникшего феномена следует понимать, что процессы инициации пенообразования в сахаросодержащих технологических потоках весьма сложны и разнообразны. Условно все факторы, провоцирующие пенообразование, можно подразделить на химические и микробиологические. К химическим факторам относят присутствие в ТМВ сапонинов, растворимых пектинов, почвенных гуминовых

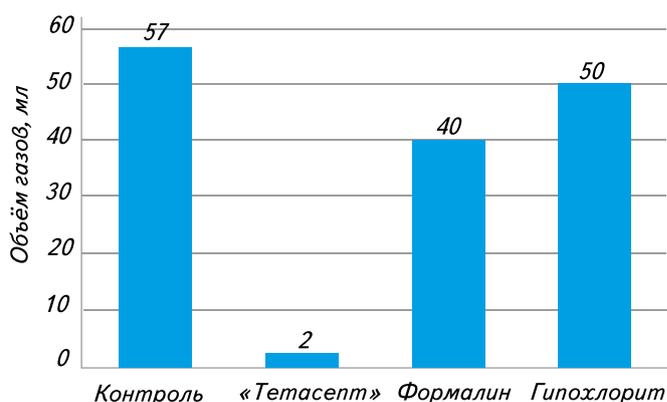


Рис. 4. Подавление антисептиками газообразования в ТМВ

Влияние антисептиков на различные группы микроорганизмов ТМВ

Антисептик	Количество микроорганизмов на четвёртые сутки брожения ТМВ					
	ОМЧ	Молочнокислые	Спорообразующие	Дрожжи	Сульфатредуцирующие ¹	Аммонифицирующие ²
Контроль	$2,7 \times 10^9$	$4,0 \times 10^8$	$5,5 \times 10^4$	$8,5 \times 10^5$	100	100
«Тетасепт»	$7,7 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$	$6,3 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$	0	0
Гипохлорит натрия	$4,3 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$	$2,4 \times 10^3$	$8,0 \times 10^5$	100	70
Формалин	$1,0 \times 10^7$	$2,2 \times 10^8$	$7,9 \times 10^3$	$8,1 \times 10^5$	100	50

Примечание: ¹ — по объёму почернения столбика среды Постгейта; ² — по объёму разжижения столбика желатинового агара.



Рис. 5. Влияние антисептиков на пенообразование в ТМВ

веществ и др. Пена, инициированная этими веществами (из свёклы и почвы), как правило, хорошо гасится известными пеногасителями. К микробиологическим факторам относят поверхностно активные вещества, выделяемые различными видами микроорганизмов. Особенно сильное пенообразование в ТМВ провоцируют несовершенные грибы (дрожжи рода *Saccharomyces* и *Candida*) и анаэробные аммонифицирующие бактерии. Именно эта микробиологическая пена является очень стойкой и с трудом поддается гашению пеногасителями.

Сильные бактерицидные свойства препарата «Тетасепт» по отношению к анаэробной микрофлоре ТМВ и сопряженный с этим свойством ярко выраженный эффект пеногашения дают нам основание сделать предварительный вывод о том, что анаэробная микрофлора ТМВ может вносить значительный вклад в «микробиологические» процессы инициации пенообразования, а подавление этой микрофлоры является залогом эффективной борьбы с данным нежелательным явлением в сахароварении.

Проведённые исследования убедительно продемонстрировали полибактерицидные свойства разработанного нами антисептирующего препарата «Тетасепт» по отношению к разнообразной микрофлоре ТМВ, и особенно к анаэробной микрофлоре. Применение этого препарата в технологии антисептирования ТМВ позволит решить ряд насущных проблем в сахароварении:

- снизить уровень инфицированности ТМВ, что неизбежно повлечёт за собой снижение уровня инфицированности диффузионного сока и последующих технологических потоков производства вплоть до готового продукта – сахара;

- увеличить длительность оборота ТМВ без значительного ухудшения её микробиологического состоя-

ния, что даст возможность снизить водо- и энергопотребление предприятия;

- снизить вероятность выбросов токсичных газов при эксплуатации ТМВ (в первую очередь сероводорода и аммиака), повысить уровень техники безопасности для персонала, улучшить санитарно-гигиеническое и экологическое состояние производства;

- сократить расход применяемых на производстве пеногасителей за счёт снижения уровня заражённости ТМВ.

Список литературы

1. Сапронов, А.Р. Технология сахарного производства / А.Р. Сапронов. – М. : Колос, 1999. – 494 с.
2. Находкина, В.З. Микробиология и микробиологический контроль в свеклосахарном производстве / В.З. Находкина. – М. : Пищевая промышленность, 1975. – 94 с.
3. Кухар, В.Н. Эффективность переработки сахарной свёклы в зависимости от её технологических качеств и особенностей ведения процесса. Ч. 1 / В.Н. Кухар [и др.] // Сахар. – № 1. – 2020. – С. 19–31.
4. Будыкина, Т.А. Очистка транспортёрно-моечных вод сахарного завода / Т.А. Будыкина, В.В. Франтова // Вестник РУДН. – № 2. – 2011. – С. 27–31.
5. Сорокин, А.И. Методы и устройства для обеззараживания оборотных вод в свеклосахарном производстве. Обзорная информация / А.И. Сорокин, А.П. Пархомец. – Серия 11. – Вып. 12. – М. : ЦНИИТЭИ Пищепром, 1983. – 24 с.

Аннотация. В статье представлены данные микробиологического скрининга транспортёрно-моечной воды (ТМВ) сахарных заводов Российской Федерации. На основании количественного и качественного составов микрофлоры ТМВ разработан антисептирующий препарат, который эффективно подавлял жизнедеятельность как аэробной, так и анаэробной микрофлоры, что позволило снизить уровень инфицированности, активность пено- и газообразования ТМВ.

Ключевые слова: транспортёрно-моечная вода, аэробная и анаэробная микрофлора, антисептирующий препарат, газообразование, пенообразование.

Summary. The article presents the data of microbiological screening of transport and washing water (TWW) of sugar plants of the Russian Federation. Based on the quantitative and qualitative composition of the TWW microflora, an antiseptic drug was developed that effectively suppressed the vital activity of both aerobic and anaerobic microflora, which allowed to reduce the level of infection, reduce the activity of foam generation and gas formation of TWW.

Keywords: transport and washing water, aerobic and anaerobic microflora, antiseptic drug, gas formation, foam generation.