

Введение Металлами загрязняются водные бассейны, почва и воздух. Содержание этих токсических элементов в ряде регионов Земного шара значительно превышает предельно допустимые концентрации (ПДК) [1]. В настоящее время тяжелые металлы считаются одной из наиболее опасных групп токсикантов, попадающих с бытовыми и промышленными отходами в окружающую среду [2]. В связи с вышеизложенным очевидна необходимость проведения постоянного мониторинга содержания тяжелых металлов в водоемах различного назначения. Возможности аналитической химии, даже при условии значительного усовершенствования существующих и создания комплекса новых методик, в проведении эффективного контроля загрязнения вод вредными веществами отнюдь не безграничны. Поэтому наряду с физико-химическими методами необходимо использование методов биологического контроля и диагностики – биотестирование и биоиндикацию. Для определения токсичности сточных вод, содержащих в своем составе тяжелые металлы, применяются представители зоопланктона дафнии (*Daphnia magna* Straus.) и цериодафнии (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg), инфузории (*Paramecium caudatum* Erenberg.) [3] и многие другие. Но в то же время необходимо уделять внимание микроорганизмам – деструкторам загрязнений, входящих в систему биологической очистки сточных вод. Комплексный подход в проведении биологического мониторинга при систематическом наблюдении позволяет судить о перспективах изменения структуры сообществ, продуктивности популяций и устойчивости экосистем по отношению к антропогенным факторам [4].

Целью исследований являлось изучение влияния ионов тяжелых металлов на примере Ni(II) и Cr(VI) на протекание окислительно-восстановительных процессов с участием микробного сообщества биопленки. Исследование проводилось в системе трех параллельных биофильтров со следующими исходными параметрами: 1. Загрузочный материал биофильтра – керамзит. 2. Расход воды = $2,5 \times 10^{-4}$ м³/ч (0,25 л/ч). 3. Время пребывания сточной воды в биофильтрах – в среднем 16 часов. 4. Аэробные условия с принудительной подачей воздуха. С целью биологической очистки на биофильтрацию непрерывно поступал модельный раствор сточных вод. Характеристика модельного раствора сточных вод приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Состав и характеристика модельного раствора сточной воды

Компонент	Количество, мг/дм ³
Na ₂ CO ₃	40
(NH ₄) ₂ SO ₄	60
NH ₄ Cl	30
KH ₂ PO ₄	15
CH ₃ COONa	50
Сахароза	125
Глицерин	50
Крахмал	50

Модельный раствор готовился с учетом присутствия в его составе важнейших макро- и микроэлементов (табл. 1) [5] и в соответствии с показателями, характерными для смешанных сточных вод ОАО «Казанский оптико-механический завод» (ХПК в диапазоне концентраций 185 – 360 мгО₂/дм³). Отсутствие органических источников азота и фосфора исключало дополнительное образование аммонийного азота в ходе аммонификации и фосфатов в процессе

ферментативного разложения и обуславливало достоверность составления материального баланса форм азота и фосфора без определения общего азота и фосфора в системе [6]. Содержание азота нитратов в модельном растворе (концентрация не более 2,7 мг/дм³) связано с применением водопроводной воды для приготовления раствора. Для инокуляции биофильтров был использован активный ил в объеме 0,8 дм³ с концентрацией биомассы в суспензии 1,8 г/дм³. Пусковой период биофильтрации для образования и наращивания биопленки до момента подачи токсикантов занимал 2 суток. Опытные системы биофильтрации предполагали поступление на очистку модельного раствора сточных вод, содержащего ионы Ni²⁺ и Cr⁶⁺. Диапазон исследуемых концентраций металлов составлял от 1 до 6 мг/дм³. При этом токсиканты подавались точечно на период времени пребывания сточной воды в системе (16 часов). Затем биопленка культивировалась в течение 24 часов без добавления металлов до подачи новой порции. Сточная вода, поступающая в контрольную систему биофильтрации, не содержала токсикантов. Для комплексного анализа токсичности исследуемых компонентов сточных вод определялась биохимическая активность ила, которая характеризуется активностью комплекса ферментов его микрофлоры. Конститутивный характер дегидрогеназ, центральное положение, которое занимает дегидрирование при биологическом окислении органических веществ, а также относительная простота методов определения активности дегидрогеназ (особенно с применением солей тетразолия), обусловили широкое применения дегидрогеназной активности (ДГА) как для оценки состояния экосистемы промышленных илов, так и токсичности сточных вод [7]. Дегидрогеназная активность биопленки была исследована по методике ВНИИ ВОДГЕО [8]. Результаты представлены на рис. 1. Представленные результаты являются относительными величинами и получены по формуле: Рис. 1 - Изменение дегидрогеназной активности в зависимости от концентрации токсиканта

Различие в значениях дегидрогеназной активности в начальный момент времени может быть связано с тем, что количество инокулята в биофильтрах могло несколько различаться, а также с погрешностью измерения дегидрогеназной активности. Из полученных экспериментальных данных в отношении дегидрогеназной активности видно, при небольших концентрациях токсикантов (1 и 2 мг/дм³) отмечена устойчивая адаптация микроорганизмов биопленки к тяжелым металлам. Как было отмечено ранее [9], ионы никеля и хрома в концентрации 3 мг/дм³ не проявляли токсичности для микроорганизмов активного ила. Более того, для низких концентраций металлов был отмечен стимулирующий эффект повышения ферментативной активности. Поэтому следует предположить, что для концентрации металлов 3 мг/дм³ в эксперименте с биопленкой увеличение дегидрогеназной активности (примерно в 10 раз для среды с ионами никеля и в два раза - с ионами хрома) связано с полной адаптацией микрофлоры к присутствию в среде тяжелых металлов.

Дальнейшее повышение концентрации металлов вызывает снижение ферментативной активности для обоих металлов, особенно значимое для ионов никеля (в 10 раз). Однако в биофилтре с добавлением хрома дегидрогеназная активность в целом намного ниже, что свидетельствует о высокой токсичности соединений шестивалентного хрома для микрофлоры. Отмечено также, что со временем биофильтрации ферментативная активность образцов биопленки снижается в контрольной пробе, что может быть связано с отмиранием культуры в связи со старением биопленки, полученной на основе микроорганизмов активного ила металлообрабатывающего предприятия. Одним из важнейших факторов исследования состояния активного ила и биопленок является гидробиологический анализ, поскольку он определяет состав, количественное распределение и своеобразие организмов активного ила и биопленок [8].

Присутствие микроорганизмов – индикаторов в биопленке определялось как качественно, так и количественно. Для количественного учета индикаторных организмов в образцах биопленки применялась пятибалльная система. Принцип ее заключается в оценке относительной численности микроорганизмов по условной пятибалльной шкале: 1 – Единичное нахождение (1-2) 2 – Мало (3-9) 3 – Порядочно (10-15) 4 – Много (16-25) 5 – В массе (>25) Преимуществом данного метода является быстрота и простота проведения исследования. Недостаток присущий методу заключается в субъективности получаемых результатов.

Пятибалльная система учета микроорганизмов применяется, как правило, для ежедневного обследования состояния активного ила и/или биопленки [10]. В образцах сформировавшихся биопленок наблюдались и подсчитывались разнообразные представители индикаторных организмов: свободноплавающих и прикрепленных простейших, а также коловратки и черви (рис. 2 – 4). Рис. 2 – Количественная характеристика индикаторных организмов биопленки биофилтра без добавления токсикантов Рис. 3 - Количественная характеристика микрофлоры биопленки, выращиваемой в присутствии ионов $Ni(II)$ в сточной воде Рис. 4 - Количественная характеристика микрофлоры биопленки, выращиваемой в присутствии ионов $Cr(VI)$ в сточной воде В образцах биопленки не отмечено активного развития вторичных и третичных консументов. Это связано с тем, что активный ил, взятый для инокулята, выращивается в условиях низкой нагрузки по органическим веществам. Следовательно, в условиях лимитирования по субстрату рост и развитие происходят незначительно. В сравнении с данными полученными для контрольного биофилтра заметно ингибирующее воздействие ионов никеля на индикаторное сообщество. Также следует отметить, что происходит некоторое увеличение числа индикаторных микроорганизмов при концентрации $Ni(II)$, равной 5 мг/дм³. Это связано с ростом гетеротрофных микроорганизмов, выраженным в изменении дегидрогеназной активности в большую сторону, которые являются субстратом для вторичных и третичных консументов.

Модельная сточная вода, содержащая ионы Cr(VI), не оказывает существенного ингибирующего действия на индикаторные микроорганизмы при низких концентрациях (до 1 мг/дм³). Дальнейшее увеличение концентрации токсиканта приводит к снижению количества микроорганизмов в биопленке. Исследования процесса трансформации неорганического азота, рассчитанные согласно стехиометрическим уравнениям, представлены в таблице 2 В отсутствии токсикантов распределение азота в целом одинаково во всех трех биофильтрах. Некоторые отличия могут быть связаны с тем, что количество инокулята в биофильтрах слегка различалось, а также с техническим несовершенством проведения модельной биологической очистки. Таблица 2 - Биологическое потребление аммонийного азота в процессе биофильтрации в присутствии никеля (II) и хрома (VI) в поступающей сточной воде

Концентрация мг/дм ³	Никель	Хром	Контроль	процесс нитрификации, %	непотребленный азот, %	биомасса, %	процесс нитрификации, %	непотребленный азот, %	биомасса, %
отс.	3	17	80	2,5	21,5	76	2,5	12,5	75
1	0,25	7,5	92,3	0,1	30	70	3	13,3	83,7
2	0,4	40	59,5	0,11	18	81,9	4	7	89
3	0,1	5	94,9	0,1	11,3	88,6	3,5	3,3	93,2
4	2,5	21,5	76	0,5	37,5	62	4	8,5	87,5
5	1,6	30	68,4	0,3	38	61,7	3,7	10	86,3
6	1	25	74	0,6	50	49,4	3,3	1,5	95,2

В ходе экспериментов была отмечена крайне низкая активность нитрификаторов в исследовательских системах. В контрольной пробе доля аммонийного азота подвергнутого нитрификации отмечена в диапазоне лишь от 2,5 до 4%. В присутствии ионов Ni(II) и Cr(VI) в концентрациях 1, 2 и 3 мг/дм³ процесс нитрификации не отличается от контроля: количество аммония, пошедшего на нитрификацию от его общего количества, не превышало 0,25%. При этом следует отметить адаптацию микрофлоры к присутствию токсикантов в условиях непрерывного культивирования. В дальнейшем при большей концентрации ионов никеля (II) - 4 мг/дм³ процесс нитрификации в биофильтре нормализуется: количество аммония на нитрификацию от его общего количества возрастает до 2,5%, т.е. в 10 раз. При этом в биофильтре в присутствии ионов хрома степень нитрификации увеличивается лишь до 0,5%. Незначительное увеличение количества аммонийного азота, пошедшего на процесс нитрификации в биофильтре в присутствии ионов хрома в концентрации 6 мг/дм³, может быть связано с более длительной и менее полной адаптацией микрофлоры биопленки к ионам хрома. Следует отметить, что для микроорганизмов биопленки в настоящих исследованиях критические концентрации токсикантов, ингибирующих биологические процессы, составили 3-5 мг/дм³, в отличие от активного ила, когда ингибирующий эффект отмечался при концентрации токсикантов свыше 6 мг/дм³, а в определенных случаях микроорганизмы выдерживали концентрации до 18 мг/дм³ [9]. В биофильтр с биопленкой металлсодержащий раствор подавался непрерывно в течение 16 часов. При равных концентрациях металлов биопленка подвергалась более

длительному воздействию токсикантов по их количеству. Заключение 1. Исходя из результатов оценки дегидрогеназной активности микроорганизмов биопленки выявлено, что добавление ионов Ni^{2+} в количествах до 3 мг/дм³ в систему биофильтрации сточных вод приводит к развитию гетеротрофной микрофлоры; однако, процесс нитрификации в этом случае развит слабо. 2. Количественно оценено токсическое влияние хрома и никеля на микроорганизмы биопленки. Показано, что микроорганизмы-нитрификаторы наиболее чувствительны к воздействию тяжелых металлов, и на их адаптацию требуется большее время. 3. Выявлено, что ионы Cr^{6+} оказывают подавляющее действие на процесс нитрификации в биопленке