

КІНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НІТРИФІКАЦІЇ У ВОДОЙМІ – ДЖЕРЕЛІ ПИТНОГО ВОДОПОСТАЧАННЯ

Юрченко В.О.¹, Радіонов М.П.², Мельнікова О.Г.¹

¹Харківський національний університет будівництва та архітектури
вул. Сумська, 40, 61002, м. Харків

yurchenko.valentina@gmail.com, mikhoksana82@gmail.com

²Український науково-дослідний інститут екологічних проблем
вул. Бакуліна, 6, 61166, м. Харків

radionov.nikita@ukr.net

За результатами обробки багаторічних даних про вміст неорганічних сполук азоту в воді р. Сіверський Донець на ділянці водозабору, експериментальних хімічних і біохімічних досліджень води і донних відкладень на цій ділянці встановлено показники процесу нітрифікації та рівня її загроз екологічній безпеці водойми й питного водопостачання м. Харкова. *Ключові слова:* нітрифікація, вміст нітритів, константи швидкості, біокінетичні константи, концентрація нітрифікуючих бактерій.

Кинетические характеристики нитрификации в водоеме – источнике питьевого водоснабжения. Юрченко В.А., Радионов Н.П., Мельникова О.Г. По результатам обработки многолетних данных содержания неорганических соединений азота в воде р. Сиверский Донец на участке водозабора, экспериментальных химических и биохимических исследований воды и донных отложений на этом участке установлены показатели процесса нитрификации и уровня ее угрозы экологической безопасности водоема и питьевого водоснабжения г. Харькова. *Ключевые слова:* нитрификация, содержание нитритов, константы скорости, биокинетические константы, концентрация нитрифицирующих бактерий.

Kinetic parameters of nitrification in water basin which is a potable water source. Yurchenko V., Radionov M., Melnikova O. As a result of longitudinal data processing of inorganic nitrogen compounds contents in the riv. Siv. Donets water, in the area of water intake, experimental chemical and biochemical investigations of water and bottom sediments were established indicators of nitrification and the rate of its threat to ecologic safety of the water basin and Kharkiv potable water supply. *Key words:* nitrification, nitrite content, velocity constants, bio kinetic constants, nitrifying bacteria concentration.

Постановка проблеми. Нітрифікація в спорудах водопідготовки – екологічно небезпечний процес, який може спричинити підвищення концентрації нітритів у воді питного призначення до небезпечного рівня (ризик метгемоглобінії й мутагенезу), підвищення забору природної води та скиду в природні водойми некондиційної технічної води, негативно вплинути на ефективність роботи технологічного обладнання [1; 2]. Нітрифікуючі бактерії потрапляють в споруди водопідготовки з природних водойм – джерел питного водопостачання й одержують певні переваги для активного розвитку: наявність носіїв із розвинутою поверхнею для іммобілізації (засипку фільтрів), сприятливі кисневі умови та постійне надходження живильних речовин (NH_4^+).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Наявність у природних водах неорганічних сполук азоту в окиснених формах свідчить про те, що у водному середовищі йдуть процеси «самоочищення» шляхом нітрифікації – реакцій циклу азоту в біосфері, які здійснюються хемолітаотрофними нітрифікуючими бактеріями [4; 5]. Нітрифікатори I фази (амонійокислюючі бактерії) здійснюють окислення амонію до нітриту, нітрифікатори II фази (нітрито-кислюючі бактерії) – окислення нітритів до нітра-

тів. «Самоочищення» природних водойм від сполук азоту екологічно безпечніше за умови рівності швидкостей першої та другої фаз нітрифікації. На деяких ділянках водойм швидкість II фази нітрифікації нижча, ніж I фази, що спричиняє накопичення нітритів [5–9]. Підтримання низьких концентрацій нітритів у природних водних системах є серйозною проблемою (нітрит – дуже токсична речовина для біоти), особливо гострою для водойм, що використовують як джерела питного водопостачання [5; 10].

У США в системах водопідготовки з хлорамонізацією (зnezараженням води введенням хлораміну, або амонію й хлору) та в розподільчій мережі водопровідної води було зазначено масовий розвиток нітрифікуючих бактерій (головним чином амонійокислюючих). Життєдіяльність цих бактерій зумовила цілий ряд негативних явищ: вторинне забруднення води питного призначення нітритами до екологічно небезпечних концентрацій; підвищення концентрації гетеротрофних бактерій, у т. ч. і бактерій групи кишкової палички; розкладення хлораміну і зниження ефекту пролонгованої дії цього дезінфектанту [2; 3].

Актуальність дослідження. У м. Харкові використовують два джерела питного водопостачання:

р. Сіверський Донець (75% загального об'єму) та Краснопавлівське водосховище (25% загального об'єму). Дослідження показників нітрифікації в цих водоймах на ділянках водозабору не виконували, а їх значення для забезпечення екологічної безпеки питного водокористування мегаполісу з населенням більше ніж 1,5 млн людей надзвичайно важливе.

Мета роботи – встановлення кінетичних, мікробіологічних і біохімічних показників нітрифікації в р. Сіверський Донець на ділянці водозабору, необхідних для опосередкованої оцінки ступеню ризику накопичення нітритів у цій водоймі та в пов'язаних із нею спорудах водопідготовки.

Попередні дослідження наявності процесів нітрифікації в р. Сіверський Донець на ділянці водозабору виконали на підставі аналізу багаторічних даних щоденного контролю концентрації азотвмісних сполук. Визначення хімічних і біологічних констант нітрифікації у природній водоймі виконували в лабораторних експериментах за методикою, викладеною в [9]. Для лабораторних дослідів із р. Сіверський Донець на ділянках водозаборів відбирали проби води (5,5 дм³) і донних відкладень. У день відбору визначали вміст у воді мінеральних форм азоту (N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃) й азоту органічного. У першому варіанті дослідів воду (2,5 дм³) інкубували без додавання реагентів. У другому варіанті в воду додавали 1,5 см³ розчину хлориду амонію (0,1 г/дм³), тобто здійснювали провокацію субстратом нітрифікації. Експозицію обох варіантів виконували протягом 31 доби у темному місці за температури 19°C у нещільно закоркованому посуді для забезпечення доступу кисню. Через певні проміжки часу з кожного варіанта відбирали проби та визначали концентрацію сполук азоту. Дані за варіантом без провокації NH₄Cl характеризували дійсний стан нітрифікації у водоймі, а за варіантом із провокацією NH₄Cl – потенційну здатність до нітрифікації.

На підставі одержаних експериментальних даних розраховували хімічні кінетичні константи амоніфі-

кації й нітрифікації I та II фаз за формулами, наведеними в [9], за допомогою розробленої математичної програми мовою програмування C++ з використанням фреймворка Qt. Значення біокінетичних констант (константи Міхаеліса K_m, та максимальної швидкості біохімічної реакції V_{max}) визначили за допомогою лінеаризації отриманих експериментальних даних методом Уокера – Шмідта [11].

Швидкість нітрифікації в донних відкладеннях визначали біохімічним методом [12] за активністю ферменту реакції хемотрофного окиснення амонію – гідроксиламіноксидоредуктази. Гідрохімічний аналіз водних середовищ (N-NH₄ – колориметрично з реактивом Неслера, N-NO₂ – колориметрично з α-нафтиламіном, N-NO₃ – колориметрично з саліцилатом натрію, N_{орг} – після мокрої мінералізації титриметрично) проводили за стандартними методиками згідно з вимогами нормативних документів України [13]. Статистичну обробку даних виконували в комп'ютерній програмі MicrosoftExcel.

Виклад основного матеріалу. Як видно з рис. 1, у р. Сіверський Донець на ділянці водозабору концентрація амонійного азоту у динаміці 5-річного періоду варіюється, а азоту нітратів – переважно знижується.

Індекс нітрифікації (I_{нітр.}) води (рис. 2) визначали за формулою, рекомендованою науковою літературою [8]:

$$I_{\text{нітр}} = C_{\text{NO}_3} / (C_{\text{NO}_3} + C_{\text{NH}_4} + C_{\text{NO}_2}) \quad (1),$$

де C_{NO₃}, C_{NH₄}, C_{NO₂} – концентрація азоту нітратів, амонію і нітритів відповідно.

Індекс нітрифікації в р. Сіверський Донець на ділянці водозабору з 2012 р. стабільно знижувався. Проте середньорічна концентрація NO₂ у воді протягом 2011–2016 рр. становила 0,04 мг/дм³, тобто була екологічно безпечною.

Послідовність досліджуваних у лабораторних експериментах біохімічних перетворень сполук азоту можна представити таким чином:

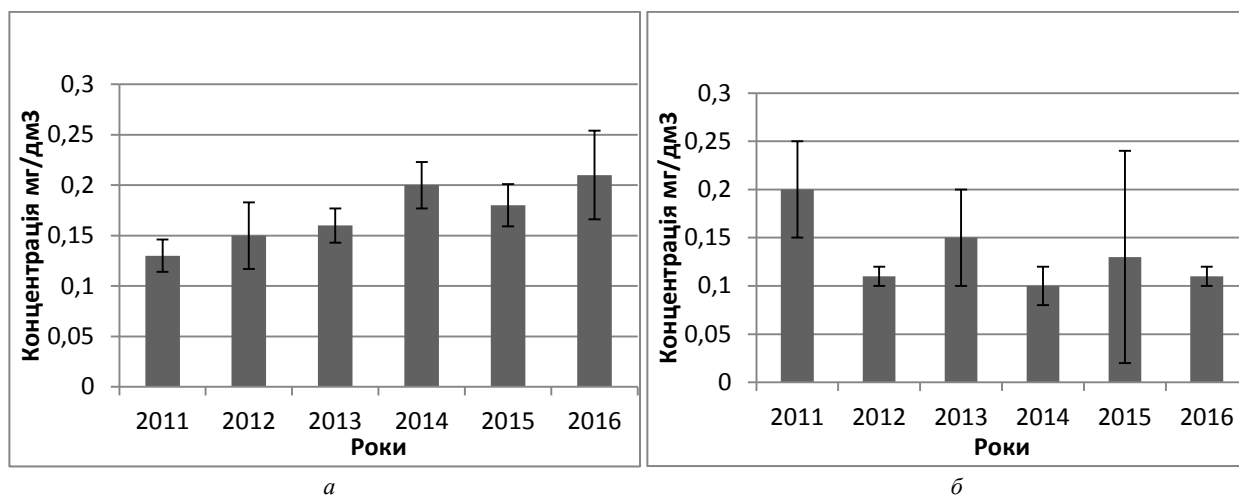
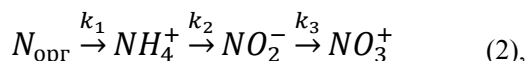


Рис. 1. Динаміка середньорічної концентрації амонійного азоту (а) й азоту нітратів (б) у воді р. Сіверський Донець



де k_1 – константа швидкості амоніфікації,
 k_2 – константа швидкості першої фази нітрифікації,
 k_3 – константа швидкості другої фази нітрифікації.

Для розрахунку констант швидкостей реакцій амоніфікації та першої фази нітрифікації використовували метод [8], який враховує, що ці реакції послідовні та мають перший порядок. Ця система з двох рівнянь виглядає таким чином:

$$[N_{\text{ам}}]_{\text{макс}} - [N_{\text{ам}}]_0 = [N_{\text{орг}}]_0 \left(\frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{k_2}{k_1 - k_2}} \quad (3)$$

$$t_{\text{макс}} = \frac{\ln \frac{k_2}{k_1}}{k_2 - k_1}$$

де $[N_{\text{орг}}]_0$ – початкова концентрація органічного азоту, мг/дм³;

$[N_{\text{ам}}]_{\text{макс}}$ – максимальна концентрація амонійного азоту, мг/дм³;

$[N_{\text{ам}}]_0$ – початкова концентрація амонійного азоту, мг/дм³;

$t_{\text{макс}}$ – час досягнення максимальної концентрації амонійного азоту, дів.

Константу швидкості другої фази нітрифікації розраховували за формулою:

$$[NO_2^-]_{\text{макс}} - [NO_2^-]_0 = k_1 k_2 [N_{\text{орг}}]_0 \left[\frac{e^{k_1 t}}{(k_1 - k_2)(k_3 - k_1)} - \frac{e^{k_2 t}}{(k_1 - k_2)(k_3 - k_2)} \right] \quad (4)$$

де $[NO_2^-]_{\text{макс}}$ – максимальна концентрація нітритів, мг/дм³;

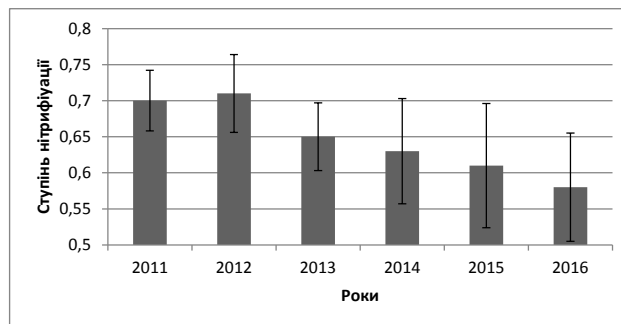


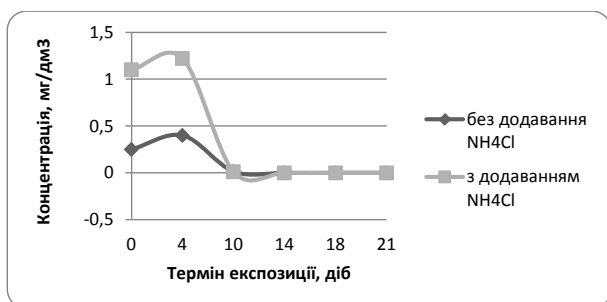
Рис. 2. Динаміка середньорічного індексу нітрифікації (2011–2016 рр.) у воді р. Сіверський Донець

$[NO_2^-]_0$ – початкова концентрація нітритів, мг/дм³;
 t – час досягнення максимальної концентрації нітритів, дів.

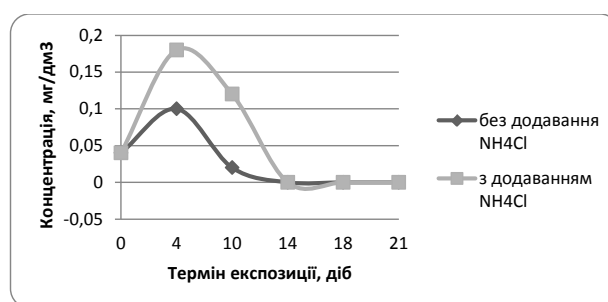
Динаміка концентрацій сполук азоту в пробах представлена на рис. 3.

Одержані результати порівняли з даними науково-технічної літератури (табл. 1). Наведені дані показали, що в воді р. Сіверський Донець на ділянці водозабору швидкість II фази нітрифікації майже в 2 рази перевищувала швидкість I фази. Це відповідає літературним даним [5; 7; 9] і пояснює той факт, що у природних водах концентрація N–NO₂ залишається на низькому рівні. Лімітуючою ланкою ланцюгу мікробіологічних перетворень азотовмісних сполук є амоніфікація.

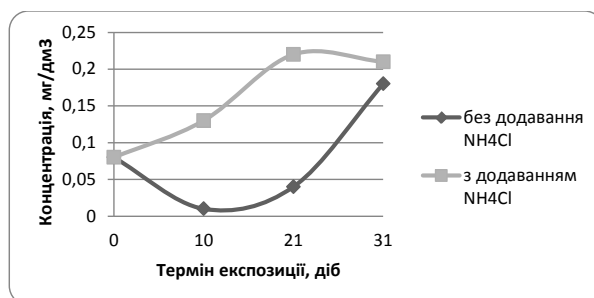
Лінеаризація даних експериментів для визначення K_s і $V_{\text{макс}}$ (варіант без додавання NH₄Cl) представлено на рис. 4, а розраховані значення цих біокінетичних констант – у табл. 2.



а



б



в

Рис. 3. Динаміка концентрації амонійного азоту (а), азоту нітритів (б) та азоту нітратів (в) у процесі експозиції води з р. Сіверський Донець

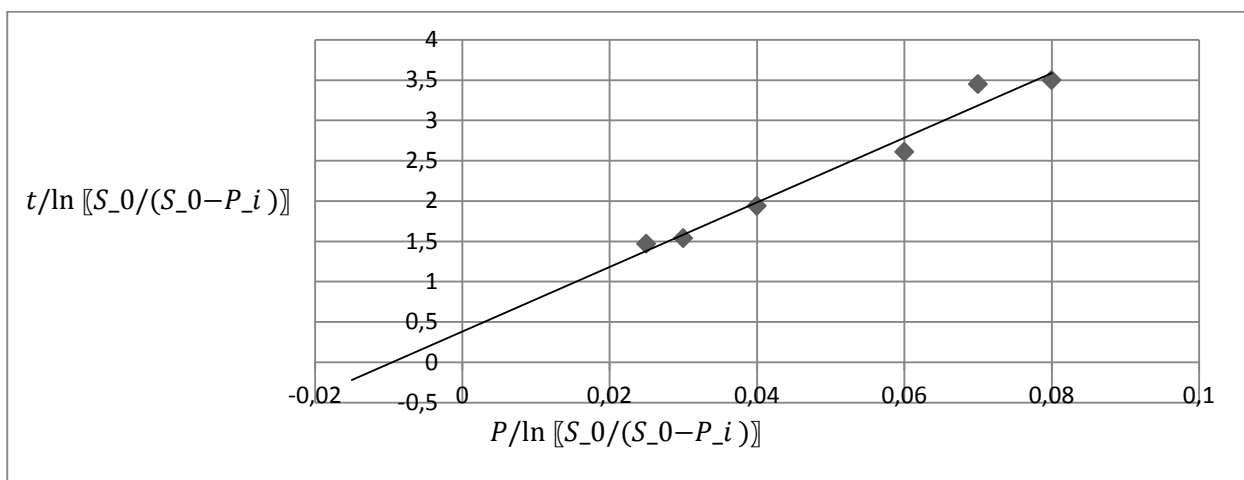


Рис. 4. Лінеаризація даних експерименту без додавання NH_4Cl

Розрахунки біокінетичних показників (табл. 2) показали, що одержані дані кореспондуються з даними досліджень інших природних водойм і біологічних очисних споруд. Відносна різниця в значеннях K_s нітрифікації в воді р. Сіверський Донець і в очисних спорудах узгоджувалася з різницею в концентрації $N-NH_4$ в цих об'єктах. Швидкість нітрифікації в р. Сіверський Донець на ділянці водозабору

була в 2,5 рази вища, ніж в північній європейській р. Лососинка (Карелія) [9], що відповідає зниженню активності розвитку мікробіологічних процесів у холодних кліматичних зонах.

За встановленою швидкістю нітрифікації можна розрахувати концентрацію нітрифікуючих (амонійокислюючих) бактерій (кінетичне визначення), виходячи з даних [6]: швидкість окислення NH_3 однією

Таблиця 1

Кінетичні характеристики амоніфікації та нітрифікації у природних водоймах

Водойма	Константи швидкості амоніфікації, I та II фаз нітрифікації (k_1, k_2, k_3), доба ⁻¹		
	k_1	k_2	k_3
р. Сіверський Донець	0,13	0,43	0,94
р. Лососинка [9]	0,03	0,23	2,35

Таблиця 2

Біокінетичні показники нітрифікації в різних водних об'єктах

Нітрифікуючий мікробіоценоз	Константа Міхаеліса, мг/дм ³	V_{max} нітрифікації першої фази, мг/(дм ³ добу)
р. Сіверський Донець	0,03	0,05
р. Лососинка [9]		0,016
Біологічні очисні споруди [14]	0,15–0,35	

Таблиця 3

Концентрація бактерій нітрифікаторів I фази у водному середовищі р. Сіверський Донець на ділянці водозабору

Вода з	Концентрація нітрифікуючих бактерій I фази (кл/см ³) у різних варіантах досліді	
	без провокації NH_4Cl	із провокацією NH_4Cl
р. Сіверський Донець	$0,4 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$
Озера нижнього Амура [15]	$(0,166-1,466) 10^3$	

Таблиця 4

Біохімічні характеристики донних відкладень у р. Сіверський Донець на ділянці водозабору

Донні відкладення з	Активність гідроксиламіноксидоредуктази, мкг формаза/г _{сухр.} ·год	Швидкість нітрифікації I фази, мг $N-NH_4$ /г _{сухр.} ·год
р. Сіверський Донець	1,69	0,006
Активний мул [12]	22–50	0,35–0,77

клітиною амонійокислюючих бактерій складає 2,83–484 $\mu\text{моль NH}_3/\text{год}$. Результати розрахунків концентрації нітрифікуючих бактерій у воді р. Сіверський Донець на ділянці водозабору (табл. 3) кореспондуються з даними інших досліджень.

Заданими науково-дослідної літератури [6; 7; 9; 15], основний внесок у нітрифікацію у природних водоймах робить життєдіяльність нітрифікуючих бактерій, що іммобілізуються у верхньому шарі донних відкладень. Результати визначення нітрифікуючої здатності верхнього шару донних відкладень за даними біохімічного аналізу представлені в табл. 4. За одержаними даними розрахували потенційну швидкість першої фази нітрифікації за формулою [12]:

$$y = 0,011 x + 0,006 \quad (5),$$

де y – швидкість першої фази нітрифікації, $\text{мг N-NH}_4/(\text{г}_{\text{сухр.}} \cdot \text{год})$;

x – активність гідроксиламіноксидоредуктази, $\text{мкг формазана}(\text{г}_{\text{сухр.}} \cdot \text{хв})^{-1}$.

Як видно, порівняно з активним мулом швидкість нітрифікації в донних відкладеннях досить низька. Проте шар таких відкладень площею 1 дм^2 та глибиною 1 см (у більш глибоких шарах нітрифікація утруднена), тобто об'ємом 0,1 дм^3 , має вагу (з урахуванням питомої ваги супесі 0,27 $\text{кг}/\text{дм}^3$) 0,27 кг,

або 270 г. Він здатен нітрифікувати близько 1,62 мг N-NH₄ щогодини (38,9 мг/добу), отже, набагато більше, ніж нітрифікуюча мікрофлора водної товщі (0,025 мг/(дм^3 добу)). Враховуючи таку швидкість нітрифікації, концентрація нітрифікуючих бактерій у донних відкладеннях р. Сіверський Донець на ділянці водозабору (з урахуванням питомої швидкості нітрифікації однією клітиною 484 $\mu\text{моль NH}_3/\text{год}$) становить $0,93 \cdot 10^6$ кл/г.

Головні висновки. Дані регулярного багаторічного контролю вмісту сполук азоту у воді р. Сіверський Донець на ділянці водозабору свідчать, що в дослідженій екосистемі відбувається нітрифікація I та II фаз, проте концентрація нітритів у ній екологічно безпечна. Як показали результати досліджень води та донних відкладень р. Сіверський Донець на ділянці водозабору, активність процесів нітрифікації набагато вища в донних відкладеннях, ніж у водній товщі, що кореспондується з даними досліджень інших науковців. Визначені на підставі результатів лабораторного експериментування кінетичні характеристики перетворень азотовмісних сполук свідчать, що швидкість II фази нітрифікації у водній товщі переважає швидкість I фази, а це суттєво знижує ризик накопичення нітритів у водоймі й опосередковано – у водоочисних спорудах на водозаборі.

Література

1. Nitrate in drinking water and bladder cancer risk is pain / N. Espejo-Herrera et al. *Environmental Research*. 2015. № 137. P. 299–307.
2. Nitrate and Nitrite in Drinking: A Toxicological Review / Water California Environmental Protection Agency. Oakland, CA, USA, 2011. P. 139–145.
3. Соловьева Ю.А., Кумани М.В. Особенности сезонной динамики растворенных форм азота в малых и средних реках Центрального Черноземья. *Вода: химия и экология*. 2013. № 3. С. 17–22.
4. Nitrogen Cycle Bacteria in the Waters of the River Drwęca / I. Gołaś et al. *Polish J. of Environ. Stud*. 2008. Vol. 17. № 2. P. 215–225.
5. Carini S.A., Joye S.B. Nitrification in Mono Lake, California: Activity and community composition during contrasting hydrological regimes. *Limnol. Oceanogr*. 2008. № 53(6). P. 2546–2557.
6. Polak J. Nitrification in the Surface Water of the Włocławek Dam Reservoir. The Process Contribution to Biochemical Oxygen Demand (N-BOD). *Polish Journal of Environmental Studies*. 2004. Vol. 13. № 4. P. 415–424.
7. Злышко А.С., Чесноков аС.М., Трифонова Т.А. Оценка предельно-допустимого воздействия на процессы самоочищения в экосистеме малоговодотока. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2014. Т. 16. № 1 (4). С. 967–971.
8. Рыжаков А.В. Кинетические характеристики трансформации азотсодержащих соединений в природной воде. *Экологическая химия*. 2012. № 21 (2). С. 117–124.
9. Modelling the fate of nitrite an urbanized river using experimentally obtained nitrifier growth parameters / M. Raimonet et al. *Water Research, IWA Publishing*. 2015. № 73. P. 373–387.
10. McGuire M.J., Lieu N.I., Pearthree V.S. Using chlorite on to control nitrification. *Journal American Water Association*. 1999. Vol. 91. № 10. P. 52–62.
11. Клесов А.А., Березин И.В. Ферментативный катализ : в 2 ч. Москва, 1984.
12. Юрченко В.А. Развитие научно-технологических основ эксплуатации сооружений канализации в условиях биохимического окисления неорганических соединений : дисс. ... докт. техн. наук : 05.23.04. Харьков, 2007. 426 с.
13. Унифицированные методы исследования качества вод. Методы химического анализа вод. Москва, 1987. 662 с.
14. Очистка сточных вод. / под ред. Хенце М., Армоэс П., Ля-Кур-Янсен Й., Арван Э. Москва. 2004. 480 с.
15. Особенности биогеохимического цикла азота в воде и донных отложениях припойменных озер нижнего Амура / Н.К. Фишер и др. *Регионы нового освоения: Современное состояние природных комплексов и вопросы их охраны: материалы междунар. конф. (11–14 октября 2015 г., Хабаровск)*. Хабаровск, 2015. С. 247–250.