

БІОДЕГРАДУЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ШВИДКИХ ФІЛЬТРІВ ЗНЕЗАЛІЗНЕННЯ ТА ДЕМАНГАНАЦІЇ ПІДЗЕМНИХ ВОД

О.С. Панченко*

ДП “Науково-дослідний та конструкторсько-технологічний інститут міського господарства”, Київ, Україна

*Corresponding author: panchenko@nikti.org.ua

Received 15 May 2020; Accepted 10 June 2020

Проблематика. Визначення складу мікробіоценозу фільтрів знезалізнення та деманганациї має на меті розширення уявлення про його властивості та взаємодії між його компонентами, що є актуальним для пошуку нових фільтрувальних завантажень, а також для вибору комбінацій мікробіоценозів та оптимального завантаження фільтрів.

Мета. Метою роботи є дослідження видового складу мікробіоценозу швидких фільтрів знезалізнення і деманганациї та встановлення причини виникнення біодеградуючих властивостей мікробіоценозу швидких фільтрів.

Методика реалізації. Дослідження проводили з використанням завантаження фільтрів знезалізнення з пілотної свердловини у смт Хорошів Житомирської області. Вихідна вода характеризувалась підвищеним вмістом заліза (15–25 мг/дм³) і мангану (2,0–2,3 мг/дм³). Для ідентифікації мікроорганізмів здійснювали посіви на живильні середовища.

Результати. На період проведення експерименту на 10, 20 і 25-й дні фільтроциклу в мікробіоценозі близько третини становили залізо- та манганокиснюючі бактерії. При цьому ефективність видалення заліза коливалась у межах 87–97 %. Для мангану ефективність видалення становила від 83 до 89 %. У складі мікробіоценозу було виявлено бактерії р. *Pseudomonas*. Визначено, що їх наявність впливає на підсилення біодеградуючих властивостей мікробіоценозу за рахунок синергічних взаємодій із залізо- та манганокиснюючими бактеріями.

Висновки. Встановлено, що для ефективного перебігу процесу знезалізнення та деманганациї у складі мікробіоценозу мають бути присутніми бактерії р. *Pseudomonas*. Бактерії р. *Pseudomonas* надають мікробіоценозу біодеградуючих властивостей за рахунок синергізму.

Ключові слова: знезалізнення; швидкі фільтри; мікробіоценоз завантаження швидких фільтрів; синергізм.

Вступ

Підземні води більшості областей України, особливо центральні та північно-західні, характеризуються підвищеним вмістом заліза та мангану, концентрація яких може сягати подекуди для заліза до 30 мг/дм³, для мангану – до 3 мг/дм³ [1]. Наявність указаних хімічних елементів у питній воді спричиняє до заростання біоплівкою водопровідних мереж, водопровідної арматури, погіршує органолептичні показники води, що призводить до збільшення експлуатаційних витрат, а часом необхідно повністю замінювати трубопроводи.

Для видалення заліза та мангану застосовуються як фізико-хімічні, так і біологічні методи. Хімічне окиснення зазвичай використовується на підприємствах водопостачання та передбачає обробку води сильними окисниками, такими як хлор, перманганат калію, діоксид хлору, озон. Проте для знезалізнення та деманганациї часто необхідно обробляти воду

підвищеними дозами окисників, що своєю чергою приводить до появи рожевого кольору води при обробці перманганатом калію та до підвищених значень вмісту хлорорганічних сполук при обробці хлором.

Біологічне окиснення більш ефективне відносно видалення заліза та мангану і стає більш поширеним у Європі, Азії та Північній Америці [2]. Проте недоліками біологічного методу є тривалий час запуску процесу знезалізнення (1–2 місяці потрібно для закріплення та нарощування біоплівки), а також необхідність виділення значних площ землі для розміщення повільних фільтрів і висока вартість будівельних робіт.

Поглиблене вивчення ролі фізико-хімічних і біологічних процесів, які відбуваються у шарі фільтрувального завантаження при знезалізненні та деманганациї води, залишається актуальним питанням сьогодення. У дослідженні [3] відзначено роль біологічного фактора при очищенні води від заліза та мангану на цеолітовому

завантаженні швидких фільтрів. Крім того, у роботі [4] вивчено мікробіоценози фільтрувального завантаження та їх співвідношення з ефективністю видалення заліза та мангану. Автори встановили, що у мікробіоценозі переважають мікроорганізми р. *Leptothrix* і р. *Sphaerotillus*. Також у мікробіоценозі для підвищення видалення названих вище елементів необхідна наявність однакової частки мікроорганізмів родів *Metallogenium*, *Galionella*, *Siderocapsa*, *Hyphomicrobium*. Також розроблено методику заселення мікробіоценозом цеолітового завантаження фільтрів, яка полягає у змиві природного мікробіоценозу фільтра та інокуляції ним цеоліту. У роботі [11] досліджено склад і властивості мікробіоценозу повільних фільтрів деманганізації. Було ідентифіковано 23 найближчих види серед досліджених мікроорганізмів, відібраних із завантаження повільних фільтрів. Авторами встановлено, що штами МОВ-181, МОВ-436 і МОВ-449 можуть бути іммобілізовані на фільтрувальному матеріалі і що ці штами є високо-ефективними для окиснення мангану, який міститься в підземних водах. Як завантаження використовувався стерильний пісок розміром 1,10–2,20 мм. Штами МОВ-181, МОВ-436 і МОВ-449 були ідентифіковані авторами як найближчі до бактерій р. *Pseudomonas*.

Нашу увагу привернуло припущення про можливість передавати таким способом біодеградуючі властивості мікробіоценозу на інше завантаження. Варто зазначити, що для досліджень авторами [11] використовувалось завантаження із працюючих повільних фільтрів, у той час як наші дослідження стосувались мікробіоценозу швидких фільтрів. Тому метою роботи було дослідження видового складу мікробіоценозу швидких фільтрів знезалізнення і деманганізації та встановлення, чим обумовлені такі властивості.

Матеріали і методи

Для дослідження біодеградуючих властивостей мікробіоценозу було використано вказані нижче методи.

Як об'єкт дослідження вибрано завантаження фільтрів знезалізнення з пілотної свердловини у смт Хорошів Житомирської обл. і проби води до та після установки знезалізнення. Вміст заліза знаходився у межах 15–25 мг/дм³, мангану – 2,0–2,3 мг/дм³ під час відбору проб. Для експериментів проби води та завантаження відбирались на 10, 20, 25-й дні

від початку фільтроциклу. Проби завантаження відбирали за допомогою бурава (набір для відбору проб ART'S MFG & Supply (American Falls, США)) [4].

Оцінку кількісного складу мікроорганізмів проводили за методикою, описаною в [3], зафарбовуванням оксидів заліза та марганцю з подальшим обчисленням кількості мікроорганізмів у камері Горяєва. Проби попередньо розводили так, щоб у квадрати камери Горяєва потрапили близько 100 мікроорганізмів із метою визначення процентного складу кожного виду залізо- та манганоокислюючих бактерій у мікробіоценозі (1:100). Мікроорганізми класифікували за морфологією на групи: такі, що відносяться до залізобактерій, та інші (такі, що не відносяться до залізо- та манганоокислюючих бактерій) [6]. Для перерахунку вмісту кожного із родів мікроорганізмів вимірювали загальне мікробне число на грам завантаження фільтра за стандартною методикою і перераховували вміст кожного із родів мікроорганізмів [4].

Також було проведено висівання завантаження фільтрів на живильне середовище для росту залізо- та манганоокислюючих бактерій. В експериментах були використані середовища такого складу: (NH₄)SO₄, NaNO₃, K₂HPO₄, MgSO₄·7H₂O – по 0,5 г кожного з реагентів, лимонна кислота – 10 г, сахароза – 2 г, гідролізат казеїну панкреатичний – 1 г, FeSO₄·7H₂O – 5,9 г (для залізоокислюючих бактерій) або MnSO₄·5H₂O – 4,7 г (для манганоокислюючих), агар-агар – 20 г, дистильована вода – 1 л, рН 6,8. Температура культивування – 25 °С, розвиток колоній на обох середовищах спостерігався на 4-5-ту добу культивування, колонії залізобактерій жовто-оранжевого кольору, колонії манганоокислюючих бактерій – бурі [5].

При виявленні “нетипових” для залізо- та манганоокислюючих мікроорганізмів колоній за умови забарвлення оксидів заліза та мангану здійснювали їх пересівання на ті ж самі живильні середовища та живильні середовища без вмісту заліза і мангану. Культивування проводили протягом 48 год за температури 28 °С. Ідентифікація отриманих ізолятів здійснювалась відповідно до морфологічних ознак мікроорганізмів згідно з визначником Берджі [6].

Для оцінки закріплення мікробіоценозу на цеолітовому завантаженні було проведено заселення стерильного цеоліту (фракція 3–5 см) суспензією “нетипових” залізо- та манганоокислюючих мікроорганізмів у рідкому живильному середовищі, отриманих під час дослідження

складу мікробіоценозу швидкого фільтра. Цеоліт без заселення мікроорганізмами покладався за контрольний. Після 5-ти днів інкубації рідке живильне середовище видаляли, цеоліт промивали стерильною водою та додавали вихідну воду зі свердловини до досягнення концентрації заліза 20,0 мг/дм³ і мангану 2,3 мг/дм³. Після 7-ми днів інкубації відбирали 1 мл рідини та визначали вміст оксиду мангану спектрофотометрично.

Вміст заліза та мангану у воді свердловин та у воді після проходження фільтрів визначали за методиками ДСанПіН 2.2.4-171-10 “Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною”: Fe (II) – з 2,2-дипіридиллом (метод заснований на взаємодії іонів двовалентного заліза з 2,2-дипіридиллом з утворенням забарвленої в червоний колір комплексної сполуки; інтенсивність забарвлення пропорційна масовій концентрації заліза; відновлення тривалентного заліза до двовалентно-

го проводиться гідроксиламіном; забарвлення розвивається швидко і стійке протягом декількох днів); загальний вміст мангану – фотоколориметрично згідно з ГОСТ 4974-72 (метод В) (метод заснований на окисненні сполук мангану до іона MnO_4^- у кислому середовищі персульфат амонію або калію за наявності срібла як каталізатора, при цьому з’являється рожеве забарвлення).

Результати

Видовий склад мікробіоценозу фільтрів води зі свердловини наведено у табл. 1.

Видовий склад мікробіоценозу фільтрів води зі свердловини, розрахований у відсотках до загальної кількості бактерій, наведено у табл. 2.

У табл. 3 наведено вміст заліза та мангану у воді зі свердловини та в очищеній воді після пілотної установки під час фільтроциклу.

Таблиця 1: Видовий склад мікробіоценозу завантаження фільтрів свердловини

Роди мікроорганізмів, КУО/г	Час відбору проб, доба		
	10	20	25
<i>Leptothrix</i>	500	2020	1893
<i>Sphaerotillus</i>	158	690	730
<i>Metallogenium</i>	300	370	356
<i>Siderocapsa</i>	400	369	354
<i>Galionella</i>	70	370	390
<i>Hyphomicrobium</i>	–	230	225
Інші	3600	7856	8023
Загальне мікробне число, КУО/г	5030	11905	11971

Таблиця 2: Відсотковий склад мікробіоценозу завантаження фільтрів свердловини

Час відбору проб, доба	Роди мікроорганізмів, у % від загальної кількості мікроорганізмів						
	<i>Leptothrix</i>	<i>Sphaerotillus</i>	<i>Metallogenium</i>	<i>Siderocapsa</i>	<i>Galionella</i>	<i>Hyphomicrobium</i>	Інші
10	10	3	6	8	1	–	72
20	17	6	3	3	3	2	66
25	16	6	3	3	3	2	67

Таблиця 3: Концентрація заліза та мангану у воді під час фільтроциклу

Час відбору проб, доба	Концентрація, мг/дм ³			
	Залізо		Манган	
	Вихідна вода	Воді після установки знезалізнення	Вихідна вода	Воді після установки знезалізнення
10	20,0 ± 1,0	2,6 ± 0,13	2,3 ± 0,12	0,40 ± 0,020
20	20,0 ± 1,0	1,2 ± 0,06	2,3 ± 0,12	0,34 ± 0,017
25	20,0 ± 1,0	0,6 ± 0,03	2,3 ± 0,12	0,25 ± 0,01

При висіванні мікробіоценозу на живильні середовища з вмістом заліза розвивались колонії жовто-оранжевого кольору, характерні для залізоокиснюючих організмів. Колір середовища змінювався від світло-зеленого до іржавого в міру росту мікроорганізмів. На середовищі з вмістом мангану з'являлись бурі колонії, колір середовища змінювався від бежевого до коричневого.

Колонії, які візуально відрізнялись від ідентифікованих нами раніше, такі як залізо- та манганоокиснюючі бактерії, було пересіяно окремо та досліджено їх морфологію. Ці колонії також вирости на середовищі без вмісту залізу та мангану.

Після 7-денної інкубації на заселеному "нетиповими" залізо- та манганоокиснюючими бактеріями цеоліті було виявлено оксид чотиривалентного мангану. Контрольний зразок залишався без візуальних змін.

Обговорення

На період проведення експерименту на 10, 20 і 25-й дні фільтроциклу в мікробіоценозі близько третини становили залізо- та манганоокиснюючі бактерії, що корелює з даними, отриманими в попередній роботі на цій же свердловині [4].

При цьому ефективність видалення заліза була достатньо високою і коливалась у межах 87–97 %. Для мангану ефективність видалення становила від 83 до 89 %.

Колонії, які візуально відрізнялись від ідентифікованих нами раніше, як залізо- та манганоокиснюючі бактерії, було ідентифіковано за морфологічними ознаками як такі, що відносяться до р. *Pseudomonas*.

Зокрема, нетипові колонії при пересіванні на середовище із залізом не давали реакції з гексаціанофератом (II) калію, в той час як при реакції з бензидином з'являлось синє забарвлення, що свідчить про наявність оксидів мангану. Отже, частина мікробіоценозу складається з бактерій р. *Pseudomonas*, які не ідентифікують як "класичні" залізо- та манганоокиснюючі бактерії, проте багато авторів відзначають їх здатність до окиснення мангану [7–10].

Нами було зроблено припущення, що значна кількість бактерій р. *Pseudomonas*, зважаючи на те, що вдалось отримати невелику кількість колоній на середовищах із марганцем та без, бере участь у видаленні мангану із води.

Для перевірки ролі бактерій р. *Pseudomonas* у мікробіоценозі було проведено експеримент із засіванням цеолітового завантаження. Після 7-денної інкубації на цеоліті було виявлено оксид чотиривалентного мангану. Це свідчить про закріплення на цеоліті бактерій і те, що вони здатні окиснювати манган.

Тобто можна стверджувати, що у мікробіоценозі швидких фільтрів для ефективного проходження процесу мають бути присутніми бактерії р. *Pseudomonas*, які, можливо, відповідають за посилення біодеградуючих властивостей мікробіоценозу за рахунок синергетичних взаємодій.

Подібні дослідження проводились авторами [11]. Виділені із завантаження повільних фільтрів штами МОВ-181, МОВ-436 і МОВ-449 були ідентифіковані авторами як найближчі до бактерій р. *Pseudomonas*. Автори зазначили, що ці штами можуть іммобілізуватись на фільтруючому матеріалі і що вони є високоефективними для окиснення мангану, що міститься в підземних водах. Як завантаження використовувався стерильний пісок розміром 1,10–2,20 мм. Отримані нами результати корелюють із дослідженнями, проведеними для біофільтрів, тому можна припустити, що у мікробіоценозі залізо- та манганоокиснюючих бактерій потрібна незначна присутність бактерій р. *Pseudomonas*. Тобто можна стверджувати, що наявність бактерій р. *Pseudomonas* надає біодеградуючих властивостей мікробіоценозу при переносі на інше завантаження.

Висновки

Встановлено, що для ефективного перебігу процесу знезалізнення та деманганації у складі мікробіоценозу повинні бути присутніми бактерії р. *Pseudomonas*.

На ефективність видалення заліза та мангану наявність бактерій р. *Pseudomonas* прямо не впливає, тому що їх внесок незначний саме для окиснення вказаних елементів. Проте бактерії р. *Pseudomonas* надають мікробіоценозу біодеградуючих властивостей за рахунок синергетичних взаємодій із залізо- та манганоокиснюючими бактеріями.

Подальші дослідження спрямовані на пошук нових завантажень швидких фільтрів та дослідження ефективності закріплення на них природніх мікробіоценозів залізо- та манганоокиснюючих бактерій.

References

- [1] National report on drinking water quality and drinking water supply in Ukraine in 2018 [Internet]. Minregion.gov.ua. 2020 [cited 2020 May 10]. Available from: <https://www.minregion.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/Natsionalna-dopovid-za-2018-rik.pdf>
- [2] Zeng H, Yin C, Zhang J, Li D. Start-up of a biofilter in a full-scale groundwater treatment plant for iron and manganese removal. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Mar;16(5):698. DOI: 10.3390/ijerph16050698
- [3] Kravchenko O. The role of microorganisms in the removal of high concentrations of iron from water on filters with zeolite loading. In: Actual problems of heat and gas supply and ventilation, water supply and drainage systems. 2015;102-3.
- [4] Kravchenko O. Study biocenosis in loading filters for removing iron and manganese and method of settlement them the zeolite. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2015;5(6):39-43. DOI: 10.15587/1729-4061.2015.51056
- [5] Kravchenko A, Chernova N, Panchenko E, Kosygina I, Yakupova I. Role of microorganisms in water purification of compounds of iron and manganese in a dense layer of sorbent–catalyst. *J Water Chem Technol*. 2016;38:294-300. DOI: 10.3103/S1063455X16050088
- [6] Whitman W. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. New York: Bergey's Manual Trust; 2011.
- [7] Banh A, Chavez V, Doi J, Nguyen A, Hernandez S, Ha V, et al. Manganese (Mn) oxidation increases intracellular Mn in *Pseudomonas putida* GB-1. *PLoS One*. 2013 Oct;8(10):e77835. DOI: 10.1371/journal.pone.0077835
- [8] Parker DL, Lee SW, Geszvain K, Davis RE, Gruffaz C, Meyer JM, et al. Pyoverdine synthesis by the Mn(II)-oxidizing bacterium *Pseudomonas putida* GB-1. *Front Microbiol*. 2014 May;5:202. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00202
- [9] Geszvain K, Smesrud L, Tebo BM. Identification of a third Mn(II) oxidase enzyme in *Pseudomonas putida* GB-1. *Appl Environ Microbiol*. 2016 Jun;82(13):3774-82. DOI: 10.1128/AEM.00046-16
- [10] Emerson D, Fleming JE, Mcbeth J. Iron-oxidizing bacteria: an environmental and genomic perspective. *Ann Rev Microbiol*. 2010;64:561-83. DOI: 10.1146/annurev.micro.112408.134208
- [11] Piazza A, Ciancio Casalini L, Pacini VA, Sanguinetti G, Ottado J, et al. Environmental bacteria involved in manganese(II) oxidation and removal from groundwater. *Front Microbiol*. 2019;10:119. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00119

Е.С. Панченко

БИОДЕГРАДИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА МИКРОБИОЦЕНОЗОВ СКОРЫХ ФИЛЬТРОВ ОБЕЗЖЕЛЕЗИВАНИЯ И ДЕМАНГАНАЦИИ ПОДЗЕМНЫХ ВОД

Проблематика. Определение состава микробиоценоза фильтров обезжелезивания и деманганации позволит расширить представления о его свойствах и взаимодействиях между его компонентами, что является актуальным для поиска новых фильтрующих загрузок, а также для выбора комбинаций микробиоценозов и оптимальной загрузки фильтров.

Цель. Целью работы являются исследование видового состава микробиоценоза скорых фильтров обезжелезивания и деманганации и установление причины возникновения биодegradирующих свойств микробиоценоза скорых фильтров.

Методика реализации. Исследования проводились с использованием загрузки фильтров обезжелезивания из пилотной скважины в пгт Хорошев Житомирской области. Исходная вода характеризовалась повышенным содержанием железа (15–25 мг/дм³) и марганца (2,0–2,3 мг/дм³). Для идентификации микроорганизмов осуществляли посеы на питательные среды.

Результаты. На период проведения эксперимента на 10, 20 и 25-й дни фильтроцикла в микробиоценозе около трети составляли железо- и марганцеокисляющие бактерии. При этом эффективность удаления железа была достаточной высокой и колебалась в пределах 87–97 %. Для марганца эффективность удаления составляла от 83 до 89 %. В составе микробиоценоза были обнаружены бактерии р. *Pseudomonas*. Определено, что их наличие влияет на усиление биодegradирующих свойств микробиоценоза за счет синергетических взаимодействий с железо- и марганцеокисляющими бактериями.

Выводы. Установлено, что для эффективного прохождения процесса обезжелезивания и деманганации в составе микробиоценоза должны присутствовать бактерии р. *Pseudomonas*. Бактерии р. *Pseudomonas* сообщают микробиоценозу биодegradирующие свойства за счет синергизма.

Ключевые слова: обезжелезивание; скорые фильтры; микробиоценоз загрузки скорых фильтров; синергизм.

O.S. Panchenko

BIODEGRADING PROPERTIES OF THE MICROBIOCENOSIS OF IRON AND MANGANESE REMOVAL RAPID FILTERS FOR GROUNDWATER

Background. Determining the composition of the microbiocenosis of iron and manganese removal filters aims to expand the idea of its properties and interactions between its components, which is relevant for finding new filter beds, as well as for choosing combinations of microbiocenosis and optimal filter bed.

Objective. The aim of the work is to study the species composition of the microbiocenosis of rapid filters of iron and manganese removal and to establish the cause of the biodegradable properties of the microbiocenosis of rapid filters.

Methods. The study was performed using the iron and manganese removal filter bed from a pilot well in Khoroshiv, Zhytomyr region. The source water characterizes by high iron (15–25 mg/l) and manganese (2.0–2.3 mg/l) content. To identify microorganisms, cultures were performed on nutrient media.

Results. At the time of the experiment on the 10, 20 and 25th days of the filter cycle in the microbiocenosis about a third were iron- and manganese-oxidizing bacteria. The efficiency of iron removal was quite high and ranged from 87–97%. For manganese, the removal efficiency ranged from 83 to 89%. *Pseudomonas* bacteria were found in the microbiocenosis and it was determined that they are responsible for enhancing the biodegradable properties of the microbiocenosis due to synergistic interactions with iron- and manganese-oxidizing bacteria.

Conclusions. It has been established that *Pseudomonas* bacteria must be present in the microbiocenosis for the effective iron and manganese removal process. *Pseudomonas* bacteria give microbiocenosis biodegradable properties due to synergism.

Keywords: iron removal; rapid filters; microbiocenosis of rapid filter bed; synergism.