

УДК 628.356+574.64

**А. В. Игнатенко**

Белорусский государственный технологический университет

**БИОТЕСТИРОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ  
ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД**

В статье рассмотрена проблема оценки химической безопасности осадков сточных вод (ОСВ) городских очистных сооружений канализации. Отмечено, что существует два основных подхода к определению опасности сред: физико-химический и биологический. В первом случае, отличающемся высокой трудоемкостью и большими экономическими затратами, требуется провести полный химический и минералогический анализ и рассчитать индекс токсичности ОСВ с учетом ПДК обнаруживаемых веществ. Он не позволяет контролировать опасность всех чужеродных веществ и их комбинаций. Этим недостатком лишены биологические методы анализа. Биотестирование – один из простейших и эффективных способов оценки токсичности сточных вод (СВ), однако он еще недостаточно широко применяется для анализа токсичности ОСВ.

В работе показано, что тест-культура клеток микроводоросли *E. gracilis* обладает чувствительностью к тяжелым металлам (ТМ), формальдегиду на уровне  $10^{-9}$ – $10^{-8}$  М, что позволяет использовать ее в составе других тест-объектов для биотестирования безопасности ОСВ.

Отмечено, что СВ образуют с ОСВ единую, взаимосвязанную равновесную систему, что дает возможность судить об общем уровне токсичности ОСВ по изменению токсичности СВ на разных стадиях их водоочистки.

Предложена схема пробоподготовки для биотестирования ОСВ, позволяющая определить общий уровень токсичности ОСВ ( $T_{\text{общ}}$ ), а также оценить природу токсичных веществ. Установлено, что токсичность ОСВ и их фракций составила:  $T_{\text{общ}} = (89,0 \pm 6,1)\%$ ,  $T_{\text{орг}} = (25,9 \pm 3,7)\%$ ,  $T_{\text{неорг}} = (63,1 \pm 2,3)\%$ , что представляет интерес для выбора способа детоксикации ОСВ.

**Ключевые слова:** осадки сточных вод, химическая безопасность, токсичность, природа токсикантов, пробоподготовка, биотестирование, тест-культура *E. gracilis*, чувствительность.

**A. V. Ignatenko**

Belarusian State Technological University

**BIOTESTING OF CHEMICAL SAFETY OF WASTE WATER SEDIMENTS**

In the article it was described a problem of chemical safety estimation of waste water sediments (WWS) at waste water sewage treatment plants. It was marked, that there are two main approaches for safety determination of media: physico-chemical and biological. In the first case, distinguishing by high labour and economical expenditures, it is necessary to carry out full chemical and mineral analyses and calculate index of WWS toxicity based on knowledge of substances limit admission concentrations. It doesn't allowed to control a danger of alien substances and their combinations. Biological approach is deprived of such disadvantages. Biotesting is one of the simple and effective methods for toxicity estimation of waste waters but it isn't used a lot for the safety analyses of WWS.

In the work it was shown that a test culture cells of algae *E. gracilis* possesses a sensitiveness to heavy metals and formaldehyde at the level  $10^{-9}$ – $10^{-8}$  M, that allowed to use it in the composition with other test-objects for biotesting of WWS chemical safety.

It was noted that WWS toxicity is connected with the level of toxicity of waste water and forms a united equilibrium system, that makes it possible to determine the total level of WWS toxicity on the changes of the waste waters toxicity at different stages of their treatment.

It was proposed a scheme of samples treatment for WWS biotesting, making it possible to determine a total level of WWS toxicity ( $T_{\text{total}}$ ) and also estimate a nature of toxic substances. It was found, that toxicity of analyzed WWS was:  $T_{\text{total}} = (89.0 \pm 6.1)\%$ ,  $T_{\text{organic}} = (25.9 \pm 3.7)\%$ ,  $T_{\text{inorganic}} = (63.1 \pm 2.3)\%$ , that represents some interest for selection of ways for WWS detoxifying.

**Key words:** waste water sediments, chemical safety, toxicity, nature of toxicants, sample treatment, biotesting, test-culture *E. gracilis*, sensitivity.

**Введение.** Биологическая очистка сточных вод (СВ) является одним из крупномасштабных прикладных экологических процессов. Ежегодное количество образующихся осадков сточных

вод (ОСВ) во всем мире составляет десятки миллионов тонн [1]. Обезвреживание и использование ОСВ является одной из актуальных экологических задач.

Основная проблема широкого применения ОСВ в качестве удобрений – их безопасность. Степень опасности ОСВ определяется, прежде всего, биологическими и химическими факторами. Методы анализа биологической безопасности ОСВ были рассмотрены нами в статье [2].

Химическая безопасность ОСВ определяется содержанием в ОСВ токсичных органических, неорганических веществ, а также присутствием биотоксикантов.

В ОСВ одновременно содержатся более 500 видов различных ксенобиотиков, среди которых десятки наименований опасных, относящихся к пестицидам, синтетическим поверхностно-активным, дезинфицирующим веществам, фармацевтическим препаратам, тяжелым металлам (ТМ) и др., оказывающим токсичное, ингибирующее, мутагенное, канцерогенное, тератогенное действие и нарушающим жизнеспособность настоящего или будущего поколения организмов.

Перечень химических веществ, представляющих опасность для живых организмов, постоянно увеличивается и включает сотни тысяч наименований. Контроль их содержания в СВ, ОСВ и оценка безопасности среды является сложной прикладной проблемой.

Существует два основных подхода к определению безопасности ОСВ: физико-химический и биологический.

В настоящее время широко используется физико-химический метод, основанный на проведении полного химического и минералогического анализа ОСВ, обнаружении в них отдельных опасных химических веществ и оценке их концентраций инструментальными физико-химическими методами анализа, с последующим расчетом класса опасности ОСВ.

К основным недостаткам данного подхода относятся: отсутствие сведений о ПДК большинства веществ, высокая трудозатратность и стоимость полного химического и минералогического анализа, невозможность проконтролировать опасность всех чужеродных веществ и их комбинаций.

Физико-химический контроль даже в самых лучших лабораториях мира позволяет определить только малую часть всех токсичных веществ, а из-за высокой стоимости анализов практически контролируются около десятка часто встречаемых токсикантов.

Биологический подход лишен этих недостатков и основан на воздействии опасных веществ на жизнеспособность живых организмов или нарушении их отдельных структур и функций. Он используется для скрининга общей загрязненности среды опасными веществами и оценки уровня их токсичности.

Анализ химической безопасности СВ и ОСВ проводится по токсичному действию веществ на гидробионтах: низших ракообразных, простейших, зеленых микроводорослях, а также половых клетках. Оценка токсичности выполняются по показателям: смертности особей, плодовитости, ингибированию роста, потере подвижности, снижению интенсивности метаболических процессов [3].

Биотестирование – один из простейших и эффективных методов, используемых для оценки токсичности сточных вод, однако он еще недостаточно широко применяется на практике для анализа токсичности ОСВ. Это может быть связано как с особенностями использования тест-культур гидробионтов, спецификой пробоподготовки ОСВ, так и с необходимостью учета различных состояний токсикантов в ОСВ, связанных с матрицей и не выделяемых с водной вытяжкой.

Токсичные вещества могут находиться в ОСВ в свободной, связанной, доступной и недоступной для биологических объектов формах. В результате протекания в ОСВ химических и биологических процессов уровень токсичности осадков может изменяться. Опасные вещества могут образовываться вследствие окислительного превращения веществ, перехода из свободной в связанную форму и обратно, что может влиять на результаты биотестирования.

К общим недостаткам метода биотестирования относятся также его недостаточная селективность и ограниченность в возможности определения природы токсичных веществ.

Наиболее часто среди опасных веществ в ОСВ присутствуют полициклические ароматические углеводороды и тяжелые металлы (ТМ).

ТМ являются ядами кумулятивного, аддитивного, канцерогенного и мутагенного действия, поэтому представляют особый практический интерес.

В настоящее время известно, что ТМ могут находиться в ОСВ в пяти различных формах: обменной, связанной с карбонатами, Fe-Mn оксидами, органическими веществами и остаточной [4].

Используемые для их выделения схемы пробоподготовки предназначены преимущественно для физико-химического анализа и не подходят для биотестирования, поскольку содержат токсичные реагенты.

Существующие методики биотестирования осадков и почв основаны на анализе токсичности их водной вытяжки [5]. Это частично оправдано тем, что свободные ионы ТМ в водной среде обладают большей токсичностью. Однако с точки зрения выбора технологии детоксикации ОСВ важно знание природы токсикантов (органические/неорганические/биоорганические) и оценка их соотношения.

**Основная часть.** Целью данной работы является разработка схемы контроля уровня безопасности и природы токсичности осадков сточных вод.

В работе использовали ОСВ Минской очистной станции (МОС) на разных стадиях очистки СВ. В качестве тест-объекта служила трехсуточная культура клеток микроводоросли *E. gracilis*.

Сушку ОСВ проводили в термостате при 100°C в течение 2 ч.

Приготовление водных вытяжек ОСВ осуществляли методом последовательной экстракции водорастворимых веществ при 20, 100°C и термообработки образцов при 270, 550°C с последующим измерением токсичности проб методом биотестирования при 20°C.

Для приготовления водных вытяжек к 20–50 г сухого ОСВ добавляли дистиллированную воду в соотношении 1 : 10 и проводили экстракцию веществ на протяжении 2 ч на магнитной мешалке при комнатной температуре. После этого образцы центрифугировали 5 мин при 5000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для биотестирования ее токсичности (проба 1).

Оставшийся осадок заливали новой порцией дистиллированной воды, нагревали до 100°C, выдерживали на водяной бане в закрытой емкости в течение 1 ч. После охлаждения, центрифугирования образцов при тех же условиях определяли токсичность надосадочной жидкости (проба 2) методом биотестирования.

Осадок после водной экстракции при 100°C высушивали до постоянной массы и помещали в муфельную печь на 1 ч при 270°C. После охлаждения из части образца готовили водную вытяжку для биотестирования ее токсичности (проба 3).

Оставшуюся часть ОСВ минерализовали при 550°C на протяжении 1 ч, после чего приготавливали водный образец и биотестировали его токсичность (проба 4).

Дополнительно проводили минерализацию исходного высушенного ОСВ при 550°C в течение 2 ч с последующим получением водной вытяжки для анализа ее токсичности (проба 5).

Биотестирование токсичности приготовленных проб ОСВ осуществляли по изменению подвижности тест-культуры клеток *E. gracilis*, как описано ранее [6].

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения Microsoft Excel.

На первом этапе работы была проверена чувствительность клеток микроводоросли *E. gracilis* к отдельным токсичным веществам.

На рис. 1 приведены результаты анализа токсичности растворов отдельных органических и неорганических веществ в зависимости от их концентрации.

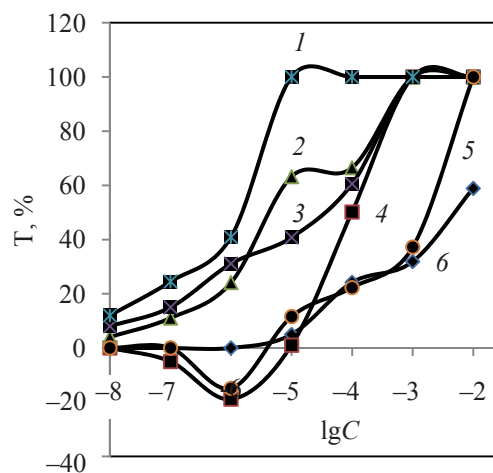


Рис. 1. Изменение индекса токсичности веществ в зависимости от их концентрации в методе биотестирования подвижности клеток *E. gracilis*:

1 – формальдегид; 2 –  $\text{Cu}^{2+}$ ; 3 –  $\text{Pb}^{2+}$ ;  
4 –  $\text{Zn}^{2+}$ ; 5 – фенол; 6 –  $\text{Fe}_{\text{общ}}$

Зависимость показателя токсичности от  $\lg C$  носит нелинейный характер в изучаемом диапазоне концентраций, однако можно выбрать участки, на которых наблюдается линейная зависимость, описываемая уравнением

$$T = a \lg C + b,$$

где  $a$  и  $b$  – константы;  $C$  – концентрация токсичных веществ в водной среде, моль/л.

Для ряда веществ ( $\text{Zn}^{2+}$ , фенол) при малых дозах наблюдается отрицательное значение индекса токсичности, характеризующее стрессовую защитную реакцию клеток. Максимальная чувствительность тест-культуры *E. gracilis* обнаружена для формальдегида, величина которой была на два порядка ниже ПДК для вод рыбохозяйственного использования (постановление Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды и Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 24.12.2009, № 70/139) (табл. 1).

Чувствительность к меди, свинцу была также ниже ПДК, тогда как чувствительность к цинку и железу находилась на уровне ПДК.

Таблица 1

**ПДК и чувствительность обнаружения анализируемых токсичных веществ в водной среде тест-культурой клеток *E. gracilis***

Вещество	Чувствительность, мг/л	ПДК, мг/л
1. Формальдегид	0,0003	0,01
2. Фенол	0,01	0,001
3. $\text{Cu}^{2+}$	0,0007	0,001
4. $\text{Pb}^{2+}$	0,001	0,1
5. $\text{Zn}^{2+}$	0,01	0,01
6. $\text{Fe}_{\text{общ}}$	0,1	0,1

На порядок меньшую чувствительность по сравнению с ПДК тест-культура проявляла к фенолу, что подтверждает одну из особенностей растительных клеток, связанную с их способностью использовать фенольные соединения для защиты от других организмов.

Это еще раз доказывает, что не существует биологических тест-культур, одинаково хорошо чувствительных ко всем ксенобиотикам.

Токсичность ОСВ взаимосвязана с уровнем токсичности СВ, поскольку они образуют единую равновесную систему.

В табл. 2 приведены результаты изменения токсичности на основных стадиях водоочистки в системе СВ – ОСВ на МОС-1 и МОС-2.

Таблица 2  
Токсичность СВ и ОСВ на МОС-1 и МОС-2

Образцы	Токсичность, %	
	МОС-1	МОС-2
СВ на выходе первичного отстойника	24,0 ± 2,2	32,4 ± 2,8
СВ на выходе аэротенка	10,5 ± 0,5	8,8 ± 1,0
СВ на выходе вторичного отстойника	4,6 ± 0,4	4,0 ± 0,6
Осадок первичного отстойника	25,0 ± 2,7	24,5 ± 3,4
Осадок вторичного отстойника	15,0 ± 2,7	20,4 ± 3,0

Как следует из приведенных результатов, активный ил аэротенков снижает токсичность СВ на 74% (МОС-1) и 84% (МОС-2), что указывает на достаточно высокую эффективность детоксикации воды в очистных сооружениях.

Удаляемые токсиканты накапливаются в активном иле, поскольку в случае органических токсикантов они медленно разлагаются, а в случае ионов тяжелых металлов перераспределяются между различными формами нахождения ТМ в ОСВ.

В целом полученные результаты указывают на то, что тест-культура клеток *E. gracilis* может быть использована для оценки уровня токсичности СВ и ОСВ.

Для проведения детоксикации ОСВ необходимо знать не только уровень их опасности, но и природу токсичных веществ, поэтому на третьем этапе работы была опробована схема пробоподготовки ОСВ с последовательной экстракцией и термообработкой.

Водный экстракт ОСВ при 20°C использовали для определения токсичности свободной формы органических, неорганических и биоорганических веществ –  $T_{20}$ .

Термообработка ОСВ при 100°C инактивирует биоорганические токсиканты, способствует дополнительному выделению слабо-, среднесвязанных органических и неорганических веществ

и позволяет оценить показатель токсичности ОСВ –  $T_{100}$  после охлаждения проб до 20°C.

Тепловая обработка при 270°C обеспечивает удаление легкоразрушаемой органики и позволяет оценить вклад данной фракции –  $T_{270}$  в общую токсичность.

Минерализация ОСВ при 550°C дает возможность определить токсичность неорганической части ОСВ, представленной в основном окислами и солями ТМ, –  $T_{550}$ .

На рис. 2 приведены результаты биотестирования уровня токсичности органической и неорганической частей ОСВ (кек) в соответствии с предложенной схемой.

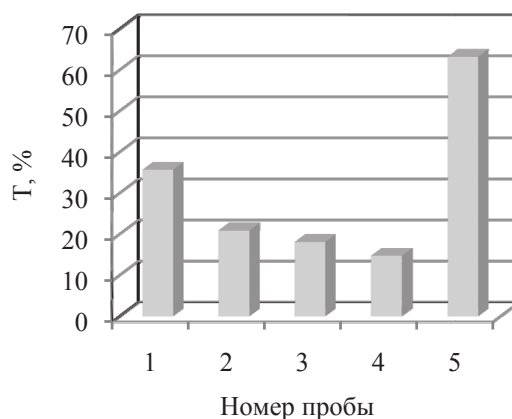


Рис. 2. Изменение уровня токсичности проб (1–5) ОСВ, полученных по схеме последовательной экстракции и термообработки

Как видно из рис. 2, в процессе биотестирования образцов ОСВ, обработанных при 20, 100, 270, 550°C, уровень токсичности проб ОСВ снижается.

Общий уровень токсичности ОСВ ( $T_{\text{общ}}$ ) определяется токсичностью органических, неорганических и биоорганических веществ и в первом приближении характеризуется суммой токсичности всех выделенных фракций ОСВ в процессе последовательной экстракции.

Токсичность неорганической части ОСВ ( $T_{\text{неорг}}$ ) определяется токсичностью зольных веществ (проба 5, рис. 2), полученных после сжигания органической и биоорганической части ОСВ. В этой связи долю органической и биоорганической части ( $T_{\text{орг}}$ ) в общей токсичности ОСВ ( $T_{\text{общ}}$ ) можно найти как разность показателей токсичности проб 1–4 и пробы 5.

В случае, приведенном на рис. 2, токсичность анализируемых ОСВ составила:  $T_{\text{общ}} = (89,0 \pm 6,1)\%$ ,  $T_{\text{орг}} = (25,9 \pm 3,7)\%$ ,  $T_{\text{неорг}} = (63,1 \pm 2,3)\%$ .

**Заключение.** В работе рассмотрены достоинства и недостатки физико-химического

и биологического подходов для оценки уровня безопасности осадков и предложен способ биотестирования уровня токсичности и природы токсичных веществ в ОСВ.

Показано, что тест-культура клеток микроводоросли *E. gracilis* обладает чувствительностью к отдельным веществам на уровне  $10^{-9}$  –  $10^{-8}$  М, что превышает или находится на уровне их ПДК. Это позволяет использовать тест-культуру клеток микроводоросли *E. gracilis* для биотестирования безопасности ОСВ.

Отмечено, что токсичность ОСВ взаимосвязана с уровнем токсичности СВ и образует единую равновесную систему, что дает возможность судить об общем уровне токсичности ОСВ по изменению токсичности СВ на разных стадиях их водоочистки.

Предложена схема пробоподготовки для биотестирования ОСВ, позволяющая определить общий уровень их токсичности, а также оценить природу токсичных веществ, что представляет интерес для выбора способа детоксикации ОСВ.

### Литература

1. Прикладная экобиотехнология: учеб. пособие: в 2 т. / А. Е. Кузнецов [и др.]. М.: БИНОМ: Лаборатория знаний, 2010. Т. 1. 629 с.; Т. 2. 485 с.
2. Игнатенко А. В. Деконтаминация осадков сточных вод и методы ее контроля // Труды БГТУ. 2016. № 4: Химия, технология орган. в-в и биотехнология. С. 210–213.
3. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / под ред. О. П. Мелеховой, Е. И. Егоровой. М.: Издат. центр «Академия», 2010. 288 с.
4. Lake D. L., Kirk P. W., Lester J. N. Fractionation, characterization and speciation of heavy metals in sewage sludge amended soils: a review // *Environ. Qual.* 1984. Vol. 13. P. 175–183.
5. Терехова В. А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С. 190–198.
6. Сазановец М. А., Игнатенко А. В. Анализ детоксикации водных сред методом биотестирования // Труды БГТУ. 2014. № 4: Химия, технология орган. в-в и биотехнология. С. 179–182.

### References

1. Kuznetsov A. E. *Prikladnaya ekobiotekhnologiya: v 2 tomakh* [Applied Ecobiotechnology: in 2 vol.]. Moscow, BINOM, Laboratoriya znaniy Publ., 2010. Vol. 1. 629 p.; Vol. 2. 485 p.
2. Ignatenko A. V. Sewage sludge decontamination and methods of its control. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], 2016, no. 4: Chemistry, organic substances technology and biotechnology, pp. 210–213 (In Russian).
3. *Biologicheskiy kontrol' okruzhayushchey sredy: bioindikatsiya i biotestirovaniye* [Biological control of environment: bioindication and biotesting]. Edited by O. P. Melekhova, E. I. Egorova. Moscow, Akademiya Publ., 2010. 288 p.
4. Lake D. L., Kirk P. W., Lester J. N. Fractionation, characterization and speciation of heavy metals in sewage sludge amended soils: a review. *Environ. Qual.*, 1984, vol. 1, pp. 175–183.
5. Terekhova V. A. Biotesting of soils: approaches and problems. *Pochvovedeniye* [Soil science], 2011, no. 2, pp. 190–198 (In Russian).
6. Sazanovets M. A., Ignatenko A. V. Detoxification analysis of aquatic environment with biological testing method. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], 2014, no. 4: Chemistry, organic substances technology and biotechnology, pp. 179–182 (In Russian).

### Информация об авторе

**Игнатенко Аркадий Васильевич** – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии и биоэкологии. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: ignatenko\_av@tut.by

### Information about the author

**Ignatenko Arkadiy Vasil'yevich** – PhD (Biology), Associate Professor, Assistant Professor, the Department of Biotechnology and Bioecology. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ignatenko\_av@tut.by

Поступила 27.02.2017