УДК 628.31:628.35

© И. И. Иваненко, канд. техн. наук, доцент
© А. М. Новикова, старший лаборант
(Санкт-Петербургский государственный
архитектурно-строительный университет)
E-mail: i5657@mail.ru, antonina.amin2016@yandex.ru

DOI 10.23968/1999-5571-2018-15-3-132-136

© I. I. Ivanenko, PhD in Sci. Tech., Associate Professor
© A. M. Novikova, senior laboratory assistant
(Saint Petersburg State University of Architecture
and Civil Engineering)
E-mail: i5657@mail.ru, antonina.amin2016@yandex.ru

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ Cr(6+) ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИМИ ПСЕВДОМОНАДАМИ В ПРИСУТСТВИИ НИТРАТОВ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЕ*

Cr(6+) BIOLOGICAL RECOVERY BY DENITRIFYING PSEUDOMONADES IN THE PRESENCE OF NITRATES IN CULTURAL MEDIUM

Представлены результаты изучения последовательности хромат- и нитратредукции денитрифицирующими псевдомонадами при одновременном присутствии соединений хрома и азота в культуральной среде. Проведенные исследования восстановления Cr(6+) бактериями разных таксономических и физиологических групп и изменение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) в процессе хроматредукции указывают на то, что Cr(6+) восстанавливается при более высоких значениях ОВП, чем нитрат, и в редокс-последовательности он должен находиться перед соединениями окисленного азота, а не после него, как считалось раньше.

Ключевые слова: терминальные акцепторы электронов, окислительно-восстановительный потенциал, бактерии, восстановление Cr(6+), соединения окисленного азота, редокс-последовательность.

The article presents the results of studying the order of the chromate- and nitrate-reduction by denitrifying pseudomonades at the simultaneous presence of the chrome and nitrogen compounds in the cultural medium. The investigation of Cr (+6) recovery by bacteria of different taxonomic and physiological groups and oxidation reduction potential (ORP) shift in the process of chromate-reduction points to the fact that Cr (+6) recovers at higher ORP values than nitrate and it should be followed by the oxidized nitrogen compounds in the redox-order, not follow it as it was considered before.

Keywords: terminal electron acceptors, oxidation reduction potential, Cr(6+) recovery, bacteria, oxidized nitrogen compounds, redox-order.

Почти все живые организмы способны аэробно дышать, т. е. использовать кислород как конечный (терминальный) акцептор электронов. Бактерии, кроме кислорода, используют неорганические вещества с переменнo-валентными элементами в их окисленной форме, то есть могут дышать и аэробно, и анаэробно [1–4, 12]. Если популяция бактерий имеет возможность выбора терминального акцептора электронов, выпол-

няется следующая редокс-последовательность [5, 6]:

- кислород (как энергетически наиболее выгодный окислитель);
- окисленные соединения азота;
- окисленные соединения переменнo-валентных элементов, в том числе металлов;
- окисленные соединения серы;
- низкомолекулярные органические соединения (н. о. с.);
- карбонаты, т. е.

* Научно-исследовательская работа выполнена по гранту СПбГАСУ №7. КПС-17.

Граница деления аэробных бактерий с окислительным метаболизмом на облигатно аэробные и анаэробно дышащие находится между кислородом и окисленными соединениями азота [7–15]. В соответствии с такой редокс-последовательностью бактерии, не восстанавливающие нитрат, не могут использовать другие переменнo-валентные элементы в качестве терминальных акцепторов электронов, находящихся после окисленных соединений азота, и относятся к облигатным аэробам.

Проведенные и ранее опубликованные результаты исследований восстановления $\text{Cr}(6+)$ бактериями разных таксономических и физиологических групп и изменение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) в процессе хроматредукции указывают на то, что $\text{Cr}(6+)$ восстанавливается при более высоких значениях ОВП, чем нитрат [16–18]. Следовательно, в редокс-последовательности он должен находиться перед соединениями окисленного азота, а не после него, как считалось раньше.

Для подтверждения этого предположения авторами была изучена последовательность хромат- и нитратредукции денитрифицирующими псевдомонадами при одновременном присутствии соединений хрома и азота в культуральной среде. Исследования проводили со следующими микроорганизмами:

1. С денитрифицирующими штаммами микроорганизмов:

- *P. aeruginosa* P-1;
- *P. fluorescens* var. *Pseudo-iodinum* P-11;
- *P. mendocina* P-13;
- *P. stutzeri* P-19.

2. Со штаммами микроорганизмов, не восстанавливающих нитрат:

- *P. fragari* B-184.

Опыты проводили в среде М9 (синтетическая среда, в которой источником энергии углерода является глюкоза, а азота — NH_4Cl). Концентрация нитрата в растворе составляла 200 мг/дм^3 , $\text{Cr}(6+)$ — 10 мг/дм^3 , оптическая плотность культуральной среды после внесения — $0,044 \text{ ед.}$

На рис. 1–4 показаны изменения концентраций нитратов и хроматов при совместном и раздельном присутствии их в растворе в результате жизнедеятельности бактерий, а также динамика ОВП среды.

На рис. 5 показано изменение концентрации хрома и ОВП культурой *P. fragari* B-184 (не восстанавливающей нитрат) в присутствии и при отсутствии нитратов в среде. На рисунке видно, что нитрат сдерживает хроматредукцию этой культурой. При его отсутствии процесс заканчивается на 8-е сутки, а при наличии нитрата — на 9-е сутки. Концентрация нитрата не изменяется, остается высокой и ОВП, что обусловлено наличием в среде нитратного иона.

Проведенные исследования по изучению последовательности хромат- и нитратредукции

Рис. 1. Изменение ОВП и концентрации нитрата (а) и хромата (б) культурой *P. aeruginosa* P-1 при совместном и раздельном присутствии их в среде

Рис. 2. Изменение ОВП и концентрации нитрата (а) и хромата (б) культурой *P. fluorescens* var. *Pseudo-iodinum* P-11 при совместном и раздельном присутствии их в среде

Рис. 3. Изменение ОВП и концентрации нитрата (а) и хромата (б) культурой *P. mendocina* P-13, при совместном и раздельном присутствии их в среде

Рис. 4. Изменение ОВП и концентрации нитрата (а) и хромата (б) культурой *P. stutzeri* P-19 при совместном и раздельном присутствии их в среде

Рис. 5. Изменение ОВР и концентрации нитрата (а) и хромата (б) культурой *P. fragari* В-184 при совместном и раздельном присутствии их в среде

денитрифицирующими псевдомонадами при одновременном присутствии соединений хрома и азота в культуральной среде подтвердили предположение о том, что редукция Cr(6+) предшествует восстановлению нитрата этими бактериями. Следовательно, в редокс-последовательности он должен находиться перед соединениями окисленного азота, а не после него, как считалось раньше, т. е.

Библиографический список

1. Воронов Ю. В., Яковлев С. В. Водоотведение и очистка сточных вод. М.: АСВ, 2006. 704 с.
2. Gvozdyak P., Dmitrenko G., Ovcharov L., Mogilevich N. New conception of water cleaning: straight-flow biotechnology // Междунар. конф. «Новые направления в биотехнологии». М., 1996. С. 95–99.
3. Жмур Н. С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками. М.: АКВАРОС, 2003. 512 с.
4. Пат. 028252 Российская Федерация, МПК C02F3/34 C02F3/12. Способ подавления бактериального нитчатого вспухания активного ила / Н. С. Жмур, О. М. Лапшин; № 94028293/13; заявл. 27.07.1994; опубл. 10.05.1997.
5. Zehnder A. J., Svensson B. E. Life without oxygen: what can and what cannot? // Experientia. 1986. Vol. 42, No 11/12. Pp. 1197–1205.
6. Убайдуллаева А. К. Роль гетеротрофных бактерий в восстановлении элементов с переменной валентностью: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Алматы, 1993. 19 с.
7. Фомин И. В. Эколого-биохимические закономерности биологической очистки воды активным илом и иммобилизованными микроорганизмами: дис. ... канд. биол. наук. Самара, 2004. 178 с.
8. Любченко О. А., Могилевич Н. Ф. Влияние носителя на активность нитрификации в очистке воды // Химия и технология воды. 2006. Т. 118, № 3. С. 36–41.
9. Романенко В. И., Кореньков В. Н. Чистая культура бактерий, использующих хроматы и бихроматы в качестве акцептора водорода при развитии в анаэробных условиях // Микробиология. 1977. Т. 46, № 3. С. 414–417.
10. Заварзин Г. А. Фенотипическая систематика бактерий. Пространство логических возможностей. М.: Наука, 1974. 125 с.
11. Калюжный С. В. Высокоэффективные анаэробные биотехнологии очистки промышленных сточных вод // Катализ в промышленности. 2004. № 6. С. 42–50.
12. Смирнов В. В., Киприанова Е. А. Бактерии рода *Pseudomonas*. Киев: Наукова думка, 1990. 264 с.
13. Myers C. R., Nelson K. H. Microbial reduction of manganese oxides: Interactions with iron and sulfur // Geochimica et Cosmochimica Acta. 1988. № 52. Pp. 2727–2732.
14. Nelson K. H., Saffarini G. I. Iron and manganese in anaerobic respiration: environmental significance, physiology and regulation // Ann. Review of Microbiology. 1994. № 48. Pp. 311–343.
15. Spear J. R., Figueroa L. A., Honeyman B. D. Modeling reduction of uranium U (VI) under variable sulfate concentrations by sulfate-reducing bacteria // Appl. Environ. Microbiol. 2000. Vol. 66, № 9. Pp. 3711–3721.
16. Иваненко И. И. Редокс-последовательность при дыхании бактерий // Вестник гражданских инженеров. 2017. № 3 (62). С. 155–159.
17. Иваненко И. И., Новикова А. М. Биологическое восстановление Cr(6+) аэробными микроорганизма-

ми разных таксономических групп // Вестник гражданских инженеров. 2018. № 2 (67). С. 175–183.

References

1. Voronov Yu. V., Yakovlev S. V. *Vodootvedenie i ochistka stochnykh vod* [Water disposal and wastewater treatment]. Moscow, ASV Publ., 2006, 704 p.
2. Gvozdyak P., Dmitrenko G., Ovcharov L., Mogilevich N. *New conception of water cleaning: straight-flow biotechnology*. Mezhdunar. konf. «Novye napravleniya v biotekhnologii» [Proc. of the International. conf. "New trends in bio-technologies"]. Moscow, 1996, pp. 95–99.
3. Zhmur N. S. *Tekhnologicheskie i biohimicheskie processy ochistki stochnykh vod na sooruzheniyah s aehrotenkami* [Technological and biochemical processes of wastewater treatment at the facilities with air tanks]. Moscow, AKVAROS Publ., 2003, 512 p.
4. Patent RF, no. 028252, IPC C02F3/34. Zhmur N. S., Lapshin O. M. *Sposob podavleniya bakterial'nogo nitchatogo vspuhaniya aktivnogo ila* [Method of suppressing the swelling of the bacterial filamentous activated sludge]. Patent RF, no. 028252, 1997.
5. Zehnder A. J., Svensson B. E. Life without oxygen: what can and what cannot? *Experientia*, 1986, vol. 42, no 11/12, pp. 1197–1205.
6. Ubajdullaeva A. K. *Rol' geterotrofnykh bakterij v vosstanovlenii ehlementov s peremennoj valentnost'yu*. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [Role of heterotrophic bacteria in the recovery of elements with variable valence. Author's thesis of PhD in Sci. Bio. diss.]. Almaty, 1993, 19 p.
7. Fomin I. V. *Ehkologo-biohimicheskie zakonomernosti biologicheskoy ochistki vody aktivnym ilom i immobilizovannymi mikroorganizmami*. Diss. kand. biol. nauk [Ecological and biochemical regularities of biological water purification by activated sludge and immobilized microorganisms. PhD in Sci. Bio. diss.]. Samara, 2004, 178 p.
8. Lyubchenko O. A., Mogilevich N. F. *Vliyanie nositelya na aktivnost' nitrifikatsii v ochistke vody* [Effect of the carrier on the activity of nitrification in water purification]. *Khimiya i tekhnologiya vody – Chemistry and technology of water*, 2006, vol. 118, no. 3, pp. 36–41.
9. Romanenko V. I., Koren'kov V. N. *Chistaya kul'tura bakterij, ispol'zuyushchih hromaty i bihromaty v kachestve akceptora vodoroda pri razvitii v anaerobnykh usloviyakh* [Pure culture of bacteria using chromates and bichromates as a hydrogen acceptor under development in anaerobic conditions]. *Mikrobiologiya – Microbiology*, 1977, vol. 46, no. 3, pp. 414–417.
10. Zavarzin G. A. *Fenotipicheskaya sistematika bakteriy. Prostranstvo logicheskikh vozmozhnostey* [Phenotypic systematics of bacteria. The space for logical possibilities]. Moscow, Nauka Publ., 1974, 125 p.
11. Kalyuzhnyy S. V. *Vysokoehffektivnyye anaerobnyye biotekhnologii ochistki promyshlennykh stochnykh vod* [Highly effective anaerobic biotechnologies of industrial wastewater treatment]. *Kataliz v promyshlennosti – Catalysis in industry*, 2004, no. 6, pp. 42–50.
12. Smirnov V. V., Kiprianova E. A. *Bakterii roda Pseudomonas* [Bacteria of the Pseudomonas genus]. Kiev, Naukova dumka Publ., 1990, 264 p.
13. Myers C. R., Nelson K. H. Microbial reduction of manganese oxides: Interactions with iron and sulfur. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1988, no. 52, pp. 2727–2732.
14. Nelson K. H., Saffarini G. I. Iron and manganese in anaerobic respiration: environmental significance, physiology and regulation. *Ann. Review of Microbiology*, 1994, no. 48, pp. 311–343.
15. Spear J. R., Figueroa L. A., Honeyman B. D. Modeling reduction of uranium U(VI) under variable sulfate concentrations by sulfate-reducing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, vol. 66, no. 9, pp. 3711–3721.
16. Ivanenko I. I. *Redoks-posledovatel'nost' pri dyhaniibakterij* [Redox-sequence at bacterial respiration]. *Vestnik grazhdanskih inzhenerov – Bulletin of Civil Engineers*, 2017, no. 3 (62), pp. 155–159.
17. Ivanenko I. I., Novikova A. M. *Biologicheskoe vosstanovlenie Sr (6+) aehrobnymi mikroorganizmami raznykh taksonomicheskikh grupp* [Cr (6+) biological recovery with aerobic microorganisms of different taxonomic groups.]. *Vestnik grazhdanskih inzhenerov – Bulletin of Civil Engineers*, 2018, no. 2 (67), pp. 175–183.