

УДК 639.3:628.3

DOI <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2022.eco.6-45.4>

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОСТІ ЗМЕНШЕННЯ ФОСФАТНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ПОВЕРХНЕВИХ РІЧОК ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ *CHLORELLA VULGARIS*

Кульбач М.О., Клімкіна І.І.

Національний технічний університет «Дніпровська політехніка»

пр. Д. Яворницького, 19, 49005, м. Дніпро

margaritak353@gmail.com, irina_klimkina@ukr.net

Фосфор – один з важливих елементів живлення усіх форм життя, що має найвищий коефіцієнт біоаккумуляції та визначає трофічний стан прісноводних екосистем. При потраплянні у воду, сполуки фосфору включаються в біохімічні цикли коло-обігу процесів всередині водойми і практично не залишають її. Сполуки фосфору мають подвійне призначення: вони являють собою будівний матеріал для клітин фітопланктону та водночас надлишок фосфору призводить до активізації процесу евтрофікації. Альголізація – процес внесення культури *Chlorella vulgaris* до водойми – є одним з методів вирішення проблеми евтрофікації водойм.

В даному дослідженні було проаналізовано перспективи використання водорості *Chlorella vulgaris* у боротьбі з наслідками забруднення водних об'єктів фосфором. Аналіз вмісту P_2O_5 у р. Дніпро свідчить про те, що концентрація фосфатів коливається протягом року, але має тенденцію до зростання у теплі місяці року (з серпня по листопад). Найбільша концентрація фосфатів спостерігається у точці забору ВП «ІдТЕС» у вересні місяці. Результати експерименту, щодо фосфатного навантаження показали, що *Chlorella vulgaris* здатна виживати та рости при високих та дуже високих концентраціях фосфатів. Отримані дані свідчать про перспективність використання *Chlorella vulgaris* для біологічної доочистки стічних вод з високими концентраціями фосфатів (P_2O_5). У результаті експерименту щодо виявлення здатності хлорели конкурувати з синьо-зеленими водоростями виявилось пригнічення росту обох видів водоростей, проте кількість клітин хлорели залишалася більшою протягом всього періоду експерименту. Визначення хімічного складу досліджуваних видів водоростей дає змогу проаналізувати їх акумулятивні властивості, а також їх спроможність жити в умовах з високим вмістом токсичних речовин. **Ключові слова:** *Chlorella vulgaris*, синьо-зелені водорості, альголізація, евтрофікація, фосфати.

Study of the possibility to reduce the phosphate pollution of surface water using *Chlorella vulgaris*. Kulbach M., Klimkina I.

Phosphorus is one of the important nutrients for all forms of life, which has the highest bioaccumulation coefficient and determines the trophic state of freshwater ecosystems. When phosphorus compounds are released into water, they become included in the biochemical cycles of the circulation of processes inside the reservoir and practically do not leave it. Phosphorus compounds have a dual purpose: they are a building material for phytoplankton cells, and at the same time, an excess of phosphorus leads to the activation of the eutrophication process. Algalization – the process of adding the culture of *Chlorella vulgaris* into a reservoir – is one of the methods of solving the problem of eutrophication of reservoirs.

Prospects for the use of *Chlorella vulgaris* in combating the effects of phosphorus pollution of water bodies have been analyzed in this study. Analysis of the P_2O_5 content in the Dnipro River shows that the phosphate concentration fluctuates throughout the year, however tends to increase in the warm month of the year (from August to November). The highest concentration of phosphates is observed at the point of intake of SS “PdTPS” in September. The results of the phosphate load experiment showed that *Chlorella vulgaris* is able to survive and grow at high and very high phosphate concentrations. The obtained data indicate the promising use of *Chlorella vulgaris* for biological post-treatment of wastewater with high concentrations of phosphates (P_2O_5). An experiment to detect the ability of *Chlorella* to compete with blue-green algae revealed inhibition of the growth of both species of algae, although the number of *Chlorella* cells remained higher throughout the experiment. Determining the chemical composition of the studied species of algae makes it possible to analyze their accumulative properties, as well as their ability to live in conditions with a high content of toxic substances. **Key words:** *Chlorella vulgaris*, blue-green algae, algalization, eutrophication, phosphates.

Постановка проблеми. Головна артерія України, р. Дніпро, у літній період потерпає від евтрофікації – стрімкого розвитку сукупності видів синьо-зелених водоростей. Таке жваве їх збільшення призводить до погіршення якості води: змінюється колір, в'язкість, рН, знижується прозорість, вміст кисню, з'являється неприємний запах. І як наслідок, вода стає непридатною для життя в ній гідробіонтів, втрачається рекреаційний потенціал.

Актуальність дослідження. Сучасний екологічний стан природних водойм України, вплив на них багаторічного скиду частково очищених скидних вод

поступово призводить до екологічної катастрофи. На початку ХХІ сторіччя екологічна ситуація, в якій опинилися водойми України, викликає серйозну занепокоєність. Однією з основних проблем є біологічне забруднення вод природних водоймищ патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами, яке призводить до евтрофікації водойм.

Основними чинниками евтрофікації є висока температура, значна кількість фосфору та азоту у водоймах. Джерелами надходження фосфору до поверхневих вод є побутові стічні води, що містять фосфати як компоненти синтетичних миючих засобів, фото-

реагентів та пом'якшувачів води. Важливим чинником також є змив фосфатних добрив та пестицидів із сільськогосподарських угідь, стоки тваринницьких ферм і промислових підприємств.

Альголізація є одним з методів вирішення проблеми «цвітіння» водойм. Суть процесу альголізації полягає у внесенні концентрату *Chlorella vulgaris* до водойми.

Внесення хлорели, крім вирішення основної встановленої задачі – зменшення цвітіння синьо-зелених водоростей, забезпечує значне покращення якості води за концентрацією забруднюючих речовин, таких як складні метали, нафтопродукти, феноли, неорганічні форми азоту і фосфору; зниження біохімічного і хімічного споживання кисню; покращення органолептичних показників; істотне зниження бактеріального обсіменення води патогенною мікрофлорою; збільшення кількості розчиненого кисню в воді протягом усього вегетаційного періоду; збільшення кормових ресурсів фауни водойм; інтенсивний розвиток зелених водоростей і зоопланктону; відновлення рекреаційного потенціалу [1].

Зв'язок авторського доробку із важливими науковими та практичними завданнями. Метою представленої дослідження є визначення можливості та ефективності альголізації річки Дніпро для зменшення бурхливого росту синьо-зелених водоростей.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Дослідженню використання *Chlorella vulgaris* для реабілітації водойм було присвячено кілька робіт. У дослідження Н.І. Богданова з альголізації Пензенського водосховища було виявлено особливості культивування *Chlorella vulgaris*. Варто зауважити, що альголізація водосховища у 1998 не дала бажаного результату, тому її вирішили повторити у 2001–2002 роках, змінивши при цьому час внесення хлорели. Результатом цього стало збільшення видового складу та кількості зелених водоростей, у порівнянні з іншими представниками фітопланктону. Саме ця ознака змогла спонукати конкуренції між синьо-зеленими та зеленими водоростями на користь останніх [2].

Спробу альголізації заток Дніпра поблизу міста Горішні Плавні описував Триліс В.В. [3]. Згідно експерименту пасту хлорели вносили до заток восени за рекомендаціями виробника. В результаті, зміни видового складу фітопланктону не спостерігалось. Проте досвід Америки, країн Європи показує ефективність внесення хлорели для боротьби із «цвітінням».

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття. Одним із найважливіших завдань сьогодення є пошук шляхів очищення та відновлення водних об'єктів. Процес альголізації матиме свої індивідуальні умови для кожної водойми. Тому виникає необхідність у проведенні аналізу для досліджуваного об'єкта.

Новизна. Отримано експериментальні результати конкурентоспроможності *Chlorella vulgaris* та

синьо-зелених водоростей в умовах моделювання фосфатного забруднення. Крім того, визначено мікроелементний склад біомаси водоростей методом ICP-MS (на базі екологічної лабораторії ТУ «Фрайберзька гірничої академія», Німеччина).

Методологічне або загальнонаукове значення. Для досягнення поставленої мети дослідження спочатку проведено аналіз фосфатного забруднення р. Дніпро за даними Регіональної доповіді про стан навколишнього природного середовища Дніпропетровської області та даними моніторингу (за адміністративно-територіальним принципом) у Дніпропетровській області [4, 5].

В лабораторних умовах клітини *Chlorella vulgaris* культивували на поживному середовищі № 3 ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,75 г/л; KH_2PO_4 – 1,5 г/л; $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ – 0,3 г/л; FeCl_3 – сліди) при температурі середовища не нижче 25°C та примусовим додаванням повітря.

Для визначення здатності клітин водорості *Chlorella vulgaris* протистояти фосфатному навантаженню використовували суперфосфат подвійний гранульований, який у своєму складі містить азоту 10%, фосфору (P_2O_5) 40%, сірки (SO_3) 5%. Культивування клітин *Chlorella vulgaris* проводили у водопровідній воді з додаванням суперфосфату подвійного у концентраціях, що перевищують ГДК у 100 та 1000 разів. Результати порівнювали з контролем, яким слугувала водопровідна вода без суперфосфату. Мікроводорості культивували протягом 7 днів.

Для дослідження конкурентоспроможності *Chlorella vulgaris* культивували разом з синьо-зеленими водоростями, відібраними з р. Дніпро в літній період (в межах центральної частини м. Дніпро). Після адаптації останніх, *Chlorella vulgaris* та синьо-зелені водорості культивували разом на поживному середовищі № 3 протягом 7 днів. Підрахунок клітин мікроводоростей здійснювався під мікроскопом із застосуванням камери Горяєва зі збільшенням об'єктива $\times 40$ та окуляра $\times 10$.

Для визначення адаптивних можливостей хлорели та ціанобактерій вивчали вміст мікроелементів, зокрема біогенних, а також важких металів та інших токсичних речовин, в біомасі обох водоростей за допомогою ICP-MS аналізу. Для підготовки зразків до хімічного аналізу зразки біомаси обох водоростей спочатку відцентрифугували та висушили у термостаті при температурі 90°. Перед ICP-MS аналізом зразки біомаси були розчинені аке-регіо (H_2O – 0,2 мл, 65% HNO_3 – 1,9 мл, HF – 0,6 мл) і піддані впливу температури 200 °C та тиску (метод Microwave digestion). Далі після розведення та додавання розчину Internal standard зразки були готові до ICP-MS аналізу.

Виклад основного матеріалу. Дніпропетровська область повністю розташована в межах басейну р. Дніпро – головної ріки гідрографічної мережі області. Стік річки зарегульований каскадом

Дніпровських водосховищ, і в межах області присутні три з них. Найбільшими притоками р. Дніпро є: Оріль, Самара, Вовча, Інгулець, Саксагань, Мокра Сура та Базавлук [4].

У 2019 році, згідно даних Регіональної доповіді про стан навколишнього природного середовища Дніпропетровської області, у поверхневі

водні об'єкти було скинуто у складі стічних вод 317,1 тис. т забруднюючих речовин. У порівнянні з 2018 спостерігалось зниження сумарного обсягу скинутих забруднюючих речовин на 43,2 тис. т [4]. На рис. 1 та у таблиці 1 зображено як змінювалася концентрація фосфатів у скидах стічних вод до поверхневих водойм впродовж 2012–2019 років.

Таблиця 1

Концентрація P_2O_5 у скидах стічних вод за 2012–2019 роки

Роки	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Концентрація P_2O_5 , т	911,6	823	777,4	604,2	578,7	573,6	686,2	715,6

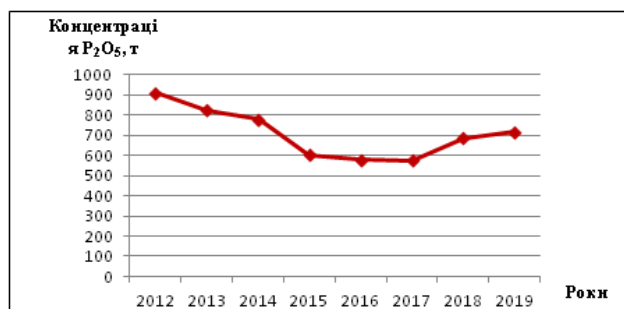
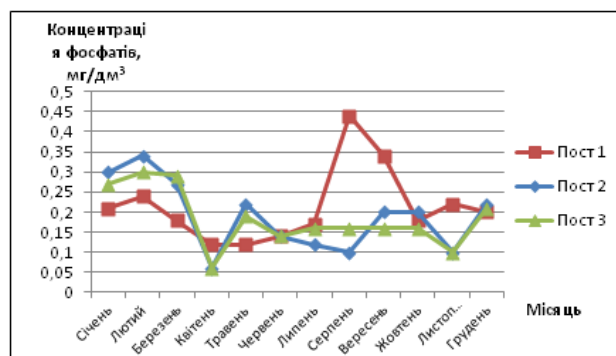
Рис. 1. Концентрація P_2O_5 у скидах стічних вод за 2012–2019 роки

Рис. 2. Концентрація фосфатів на постах р. Дніпро

Згідно вищенаведених даних ми бачимо, що з 2012 року концентрація фосфатів поступово знижувалася до 2017 року, що безумовно є позитивним проявом.

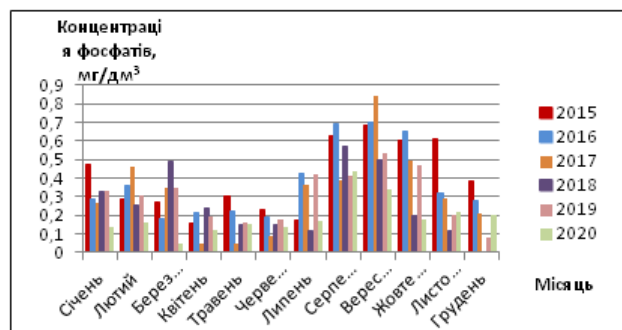
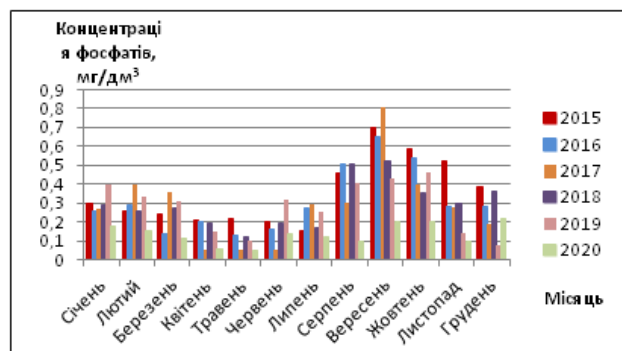
Зростання вмісту фосфат-іонів, амоній-іонів, марганцю, БСК5, ХСК та зниження розчиненого кисню зазвичай спостерігається у другій половині літа і на початку осені, насамперед внаслідок встановлення високих температур повітря і води, а також росту біохімічних процесів [4].

В межах міста Дніпро існує 3 питні водозабори, де щомісяця беруть проби води для аналізу їх складу. Це:

- Пост: р. Дніпро, 404 км, м. Дніпро, ВП «ПдТЕС» ПАТ «ДТЕК Дніпроенерго», питний в/з;
- Пост: р. Дніпро, 420 км, м. Дніпро, лівий берег, Ломовський питний в/з;
- Пост: р. Дніпро, 420 км, м. Дніпро, правий берег, Кайдакський питний в/з.

На рис. 2 представлені концентрації фосфатів mg/dm^3 впродовж січня – травня 2021 року та червня – грудня 2020 року згідно даних Державного агентства водних ресурсів України [5].

Згідно цих даних можна помітити, що вміст фосфатів коливається протягом року, але має тенденцію до зростання у теплі місяці року. Найбільша концентрація фосфатів спостерігається у точці забору ВП «ПдТЕС» у вересні місяці. На рисунках 3–5 зображено як змінювалася концентрація фосфору у р. Дніпро на 1–3 постах впродовж кожного місяця протягом 2015–2020 років.

Рис. 3. Розподіл концентрацій P_2O_5 кожного місяця впродовж 2015–2020 років на 1 постуРис. 4. Розподіл концентрацій P_2O_5 кожного місяця впродовж 2015–2020 років на 2 посту

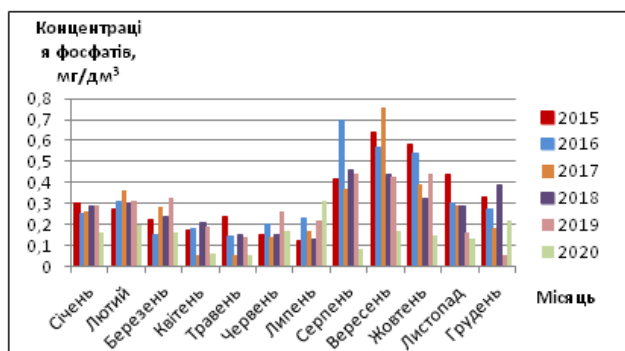


Рис. 5. Розподіл концентрацій P_2O_5 кожного місяця впродовж 2015–2020 років на 3 постах

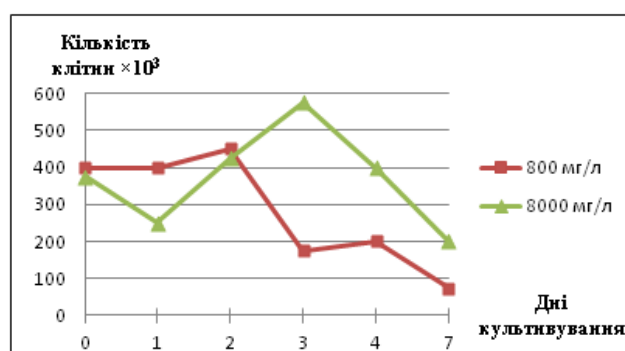


Рис. 6. Зростання *Chlorella vulgaris* на фосфатному середовищі

Як видно з рисунків 3–5 концентрація фосфатів у р. Дніпро на 1–3 постах протягом останніх п'яти років стабільно приблизно у 16 разів вище у вересні в порівнянні з іншими місяцями року. Це може бути обумовлено використанням мінеральних добрив для підвищення врожаю протягом вегетаційного періоду сільськогосподарських рослин і потраплянням поверхневого стоку з полів у річку та інші водойми.

Результати дослідження впливу надлишкових концентрацій фосфору на *Chlorella vulgaris*, які представлені на рисунку 6, виявили, що на 1 день культивування спостерігається спад чисельності клітин у зразку з концентрацією 8000 мг/л фосфатів. Таке явище можна пояснити адаптацією клітин до нового мінерального складу культурального середовища.

На 3 день культивування спостерігається пік чисельності хлорели у другому зразку. На наступний день культура починає деградувати.

У першому зразку перші два дні чисельність клітин не змінилася, оскільки культура пристосовувалася до таких умов. На наступний день ми спостерігаємо невеликий ріст водорості, але надалі чисельність клітин хлорели починає спадати.

Результати експерименту з конкурентоздатності хлорели та ціанобактерій показали, що кількість клітин обох водоростей хоча й стрімко знижувалася, проте *Ch. vulgaris* показала більш високу здатність до виживання (рисунк 7).

Результати ICP-MS аналізу показали наявність у біомасі водоростей різноманітних металів (рисунк 8). Як видно з рисунку 8а, клітини ціанобактерій у більшій мірі акумулювали важкі метали та інші токсичні елементи (зокрема миш'як), що дає підстави стверджувати про більшу чутливість і відповідно уразливість до негативного впливу важких металів у порівнянні з мікроводоростями хлорели. При цьому, хлорела виявилася більш конкурентною стосовно накопичення біогенних елементів (рис. 8б).

Цікавими виявилися результати ICP-MS аналізу стосовно накопичення біомасою ціанобактерій та хлорели мікроелементів, які відносяться до групи рідкоземельних (рис. 9).

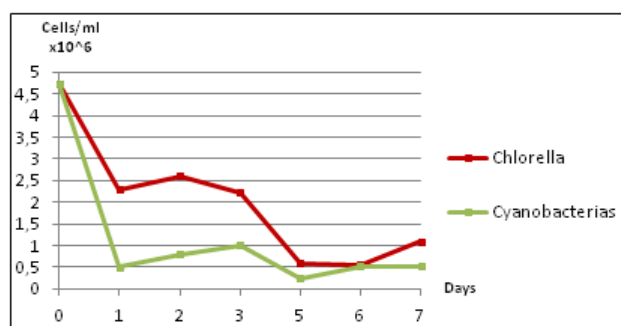
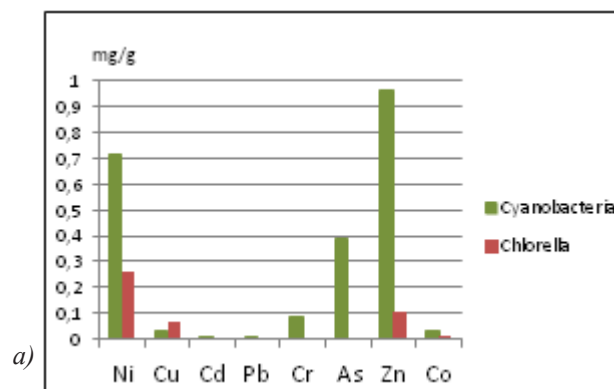
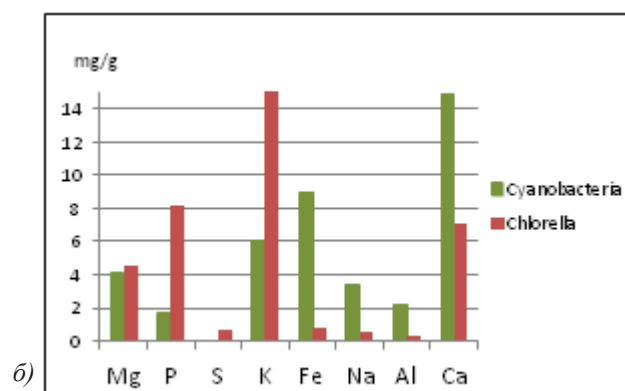


Рис. 7. Криві зростання *Chlorella vulgaris* та ціанобактерій в експериментальних умовах на середовищі № 3



а)



б)

Рис. 8. Вміст важких металів (а) та макроелементів (б) у біомасі водоростей

Оскільки ціанобактерії росли у природних умовах, а хлорела – у культуральному середовищі, тому вміст всіх представлених мікроелементів у біомасі ціанобактерій звісно буде вищий.

Головні висновки. Результати культивування *Chlorella vulgaris* в умовах с високими концентраціями P_2O_5 , що в 100 і 1000 разів перевищують ГДК по стічним водам, свідчать про можливість використання мікроводоростей з метою доочистки стічних вод від надлишкових концентрацій фосфатів.

Опираючись на результати аналізу можна стверджувати, що і *Ch. vulgaris*, і ціанобактерії показали високі адаптаційні властивості щодо вмісту різних груп металів у воді. Це свідчить про їх спроможність жити в умовах з високим вмістом токсичних речовин, а також конкурувати між собою за ресурсну базу.

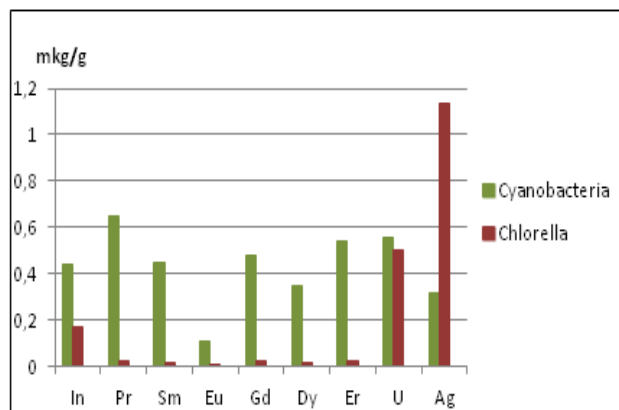


Рис. 9. Вміст мікроелементів у біомасі ціанобактерій та хлорели

Література

1. Шарило Ю. Є. Використання водоростей виду *chlorophyta* як біологічний метод очищення водойм. *Водні біоресурси та аквакультура*. 2020. № 1. С. 88–102.
2. Боднар О.І. Біотехнологічні перспективи використання мікроводоростей: основні напрями. *Наукові записки Тернопільського національного пед. університету. Сер. Біологія*. 2017. Вип. 1 (68). С. 138–146.
3. Триліс В. В. Досвід боротьби з «цвітінням» природних водойм за допомогою внесення концентрату хлорелли (*Chlorella vulgaris* beijer.). *Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти*: зб. матеріалів доп. учасн. VI Міжнар. наук.-практ. конф. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2019. С. 198–200.
4. Регіональна доповідь про стан навколишнього природного середовища Дніпропетровської області за 2019 рік / Дніпропетровська обласна держ. адміністрація. URL: <https://adm.dp.gov.ua/storage/app/uploads/public/605/06f/47b/60506f47bd3cb255698190.pdf> (дата звернення: 10.11.22).
5. Дані моніторингу (за адміністративно-територіальним принципом) : Дніпропетровська область : з 01.01.2012 до 10.06.2021. *Державне агентство водних ресурсів України* : веб-сайт. URL: <http://monitoring.davr.gov.ua/Reporting> (дата звернення: 10.11.22).