

УДК(579.68:582.232):001.891

Каленіченко К.П.

Інститут гідробіології НАН України, м. Київ

**ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕСТРУКЦІЇ ОРГАНІЧНОЇ РЕЧОВИНИ ПРИ
ВАРІЮВАННІ РІЗНИХ ФАКТОРІВ СЕРЕДОВИЩА В ПРИРОДНІЙ
ВОДИ ЗА ДОПОМОГОЮ БАГАТОФАКТОРНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ**

Ключові слова: рівняння бактеріальної деструкції, флуоресцентна мікроскопія, ротаційний центральний композиційний план (РЦКП)

Вступ. Господарсько-побутові і промислові стічні води, які скидають у природні водні об'єкти, містять в основному розчинені, нерозчинені й колоїдні речовини. Сполука й концентрація цих забруднень впливають на якість води у водоймах.

Деструкція органічних речовин (ОР) у природних водах здійснюється в основному водними мікроорганізмами. Визначальна роль бактерій у кругообігу речовин у природних водоймах обумовлена їхньою високою чисельністю, швидким розмноженням, надзвичайно високою активністю [2, 9, 10, 14, 15]. Бактерії використовують для свого розвитку як розчинену, так і завислу органічну речовину.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Одним з важливих екологічних факторів, що впливають на розвиток бактерій, є температура. Так, у роботі [19] відзначено, що на Байкалі при низьких температурах (0,5 – 15°C), час генерації бактерій (g) становить 3,7 – 112,4 год⁻¹. Температура води в межах до 18° С, є основним екологічним фактором, що регулює чисельність і швидкість розмноження бактерій у всіх водоймищах Дніпра.[4]. Слід відзначити, що вплив температури на бактерії може проявлятися також побічно, через фітопланктон.

Цікаві дослідження проведені на Дніпровско-Бузькому лимані та річковій ділянці Канівського водоймища в 1997 р. Так у зв'язку з надходженням морських вод у лиман змінювались продукційні характеристики бактеріопланктону, час генерації (g) коливався у межах 24-200 год⁻¹, а константа швидкості росту бактерій (K) склала 0,013-0,029 діб⁻¹. [5]. На річковій ділянці Канівського водосховища ці показники становили відповідно – g 25-119 год⁻¹ та K до – 0,11-0,48 діб⁻¹[6].

Як видно з наведених досліджень [2, 4–6, 9–11, 14, 19], функціональна активність водних мікроорганізмів вивчалася досить добре. Однак використання планів багатофакторних експериментів для екологічних

досліджень проводилися вкрай мало. А визначення загального числа бактерій (ЗЧБ) за допомогою люмінесцентної мікроскопії в Україні взагалі майже не проводилося. Наведено модифікацію цього методу за допомогою акридинового оранжевого на предметних скельцях.

Мета роботи дослідити деструкцію ОР в лабораторних умовах при впливі трьох факторів: температури води, концентрації ОР та тривалості експозиції.

Методика досліджень. Воду для експерименту відбирали навесні (березень 2007 р.) у руслі Дніпра біля затоки Оболонь батометром Рутнера на глибині 0,2-0,4 м. Фоновий вміст загального числа бактерій (ЗЧБ) – 2,52 млн. кл/мл при температурі води 1° С. У чисті й стерильні колби вносили по 100 мл природної води, додавали навішення органічної речовини (пептон), відповідно до плану експерименту. Експонували при різних температурах (3,5,15,25,42°С) і тривалості експозиції (3, 5, 11, 19 доби), з концентрацією ОР (180, 300, 900, 1500, 2500 мг/дм³).

На розвиток бактерій у природній воді впливали три важливих фактори: температура води, (X_2) час контакту з ОР (X_1) і його концентрація (X_3).

Для визначення деструкції ОР бактеріями визначали флуоресцентним методом загальне число бактерій (ЗЧБ). Цей метод раніше описаний [17], а огляд сучасної літератури стосовно цього методу дано в роботі [18].

Нами застосовувалася наступна методика визначення ЗЧБ. На предметне скло, з кожного варіанту експерименту відбирали 0,02 мл досліджуваної води й додавали 0,02 мл 0,01 % розчину акридинового оранжевого. Зверху покривали покривним склом розміром 18x18 мм. Прораховували 20 полів зору на флуоресцентному мікроскопі Люмам И-1 у відбитому світлі з набором збуджуючих світлофільтрів ФС-2, СЗС 21-2, БС 1-3; та «замикаючого» світлофільтра ЖЗС-18+ЖЗС-19 (зелений); з об'єктивом 40^x та окуляром 10^x із сіточкою. Розрахунок ЗЧБ проводили згідно [20].

Використали ротатабельний центральний композиційний план (РЦКП), [1,13,21,22]. Його відмінність від повного факторного експерименту полягала в тому, що при реалізації його можна одержати лінійні й квадратичні взаємодії досліджуваних факторів для бактеріопланктону в експерименті. Розрахунок статистичних показників, коефіцієнтів кореляції й оцінку рівнянь регресії проводили по програмі STATISTICA 6.0 [3].

Отримані результати. Як відомо з літератури, вміст ОР у природних водах становить 1-2 мг/дм³ [9]. Однак, у зв'язку зі спуском неочищених стічних вод в природних водах, початкова концентрація може підвищуватись до 180-2500 мг/дм³.

В табл. 1 представлений план та результати проведеного багатфакторного експерименту РЦКП. Як видно, межі коливань ЗЧБ становили - 4,25 - 200,77 млн. кл/мл.

За допомогою програми STATISTICA 6.0 - DDE [3] були отримані й розраховані лінійні коефіцієнти рівняння експерименту (виділені й підкреслені коефіцієнти значимі для $p = 0,05$):

Як видно, з рівняння (табл.2) основну роль у деструкції ОР відіграє концентрація, (+35,655 x_3) і температура (+5,405 x_2), а також опосередковано – час експозиції та концентрація (+11,010 $x_1 x_3$).

Проводився також розрахунок рівняння регресії і для квадратичної моделі.

За допомогою програми STATISTICA 6.0 отримані та розраховані основні лінійні й квадратичні коефіцієнти рівняння експерименту (виділені й підкреслені коефіцієнти значимі при $p = 0,05$).

Таблиця 1. План РЦКП та результати експерименту

№ досліду	X 1 Час експозиції, діб	X 2 Температура °C	X 3 Концентрація, мг/дм ³	У 1 ОЧБ, млн. кл/мл
1	5	5	300	5,34
2	5	5	1500	7,72
3	5	25	300	20,04
4	5	25	1500	23,46
5	11	5	300	13,66
6	11	5	1500	48,26
7	11	25	300	26,38
8	11	25	1500	85,66
9	3	15	900	4,25
10	19	15	900	9,95
11	8	3	900	6,20
12	8	42	900	21,68
13	8	15	180	3,86
14	8	15	2500	200,77
15	8	15	900	16,33
16	8	15	900	14,10

Таблиця 2. Оцінка і розрахунок лінійних коефіцієнтів регресії у факторному експерименті РКЦП

Factor	Effect Estimates; Var.: У 1 ОЧБ млн. кл/мл; R-sqr=.61497; Adj 3 factors, 1 Blocks, 16 Runs; MS Pure Error=2,48645 DV: У 1 ОЧБ млн. кл/мл					
	Effect	Std.Err. Pure Err	t(1)	p	Coeff.	Std.Err. Coeff.
Mean/Interc.	<u>27,47964</u>	<u>0,399613</u>	<u>68,76558</u>	<u>0,009257</u>	<u>27,47964</u>	<u>0,399613</u>
(1)X 1 Время , сут(L)	7,58318	0,644175	11,77193	0,053950	3,79159	0,322087
(2)X 2 Температура° C(L)	<u>10,81130</u>	<u>0,774354</u>	<u>13,96171</u>	<u>0,045520</u>	<u>5,40565</u>	<u>0,387177</u>
(3)X 3 Концентр, мг/л(L)	<u>71,31016</u>	<u>0,778415</u>	<u>91,60941</u>	<u>0,006949</u>	<u>35,65508</u>	<u>0,389208</u>
1L by 2L	4,92000	1,115000	4,41256	0,141878	2,46000	0,557500
1L by 3L	<u>22,02000</u>	<u>1,115000</u>	<u>19,74888</u>	<u>0,032208</u>	<u>11,01000</u>	<u>0,557500</u>
2L by 3L	6,43000	1,115000	5,76682	0,109307	3,21500	0,557500

Примітка: Ефект оцінки: Спостереження (Var.1) ЗЧБ млн. Кл/мл; $R^2_{\text{корр}} = 0,61497$; 3 чинника 1 блок, 16 серій (досвідів); чиста помилка дисперсії 2,48645.

$$U_{1 \text{ ЗЧБ}} = \underline{27,479} + 3,791 x_1 + \underline{5,405} x_2 + \underline{35,655} x_3 + 2,46 x_1 x_2 + \underline{11,010} x_1 x_3 + 3,215 x_2 x_3$$

Як видно з цього рівнянні регресії (табл. 3) найбільш вагомих ефект дає концентрація ОР лінійна (+16,665 X_3) та квадратична (+19,297 X_3^2). Температура теж грає важливу роль в деструкції (+9,002 X_2), час експозиції – лінійно збільшує деструкцію (+10,298 X_1), а квадратична – зменшує (-2,971 X_1^2).

Таблиця 3. Оцінка й розрахунок лінійних і квадратичних коефіцієнтів регресії у факторному експерименті РКЦП

Effect Estimates; Var.: У 1 ОЧБ млн. кл/мл; R-sqr=.94295; Adj 3 factors, 1 Blocks, 16 Runs; MS Pure Error=2,48645 DV: У 1 ОЧБ млн. кл/мл						
Factor	Effect	Std.Err. Pure Err	t(1)	p	Coeff.	Std.Err. Coeff.
Mean/Interc.	15,02152	0,745814	20,1411	0,031582	15,02152	0,745814
(1)X 1 Время , сут(L)	20,59625	0,885986	23,2467	0,027369	10,29812	0,442993
X 1 Время , сут(Q)	-5,94119	0,365924	-16,2361	0,039161	-2,97059	0,182962
(2)X 2 Температура° C(L)	18,00441	0,976781	18,4324	0,034504	9,00221	0,488391
X 2 Температура° C(Q)	-4,62079	0,629582	-7,3395	0,086208	-2,31040	0,314791
(3)X 3 Концентр, мг/л(L)	33,33017	0,975669	34,1613	0,018630	16,66508	0,487835
X 3 Концентр, мг/л(Q)	38,59335	0,641687	60,1436	0,010584	19,29667	0,320843

Примітка: Ефект оцінки: Спостереження (Var.1) ЗЧБ млн. кл/мл; $R^2_{кор} = 0,94295$; 3 фактора 1 блок, 16 серій (досвідів); чиста помилка дисперсій 2,48645.
 $Y_{1 \text{ ЗЧБ}} = \mathbf{15,022} + \mathbf{10,298 X_1} - \mathbf{2,971 X_1^2} + \mathbf{9,002 X_2} - \mathbf{2,310 X_2^2} + \mathbf{16,665 X_3} + \mathbf{19,297 X_3^2}$

Також, наприклад, за допомогою програми STATISTICA 6.0. можливо розрахувати оцінку бажаного профілю для середніх даних. На рис. представлений цей профіль для факторного експерименту.

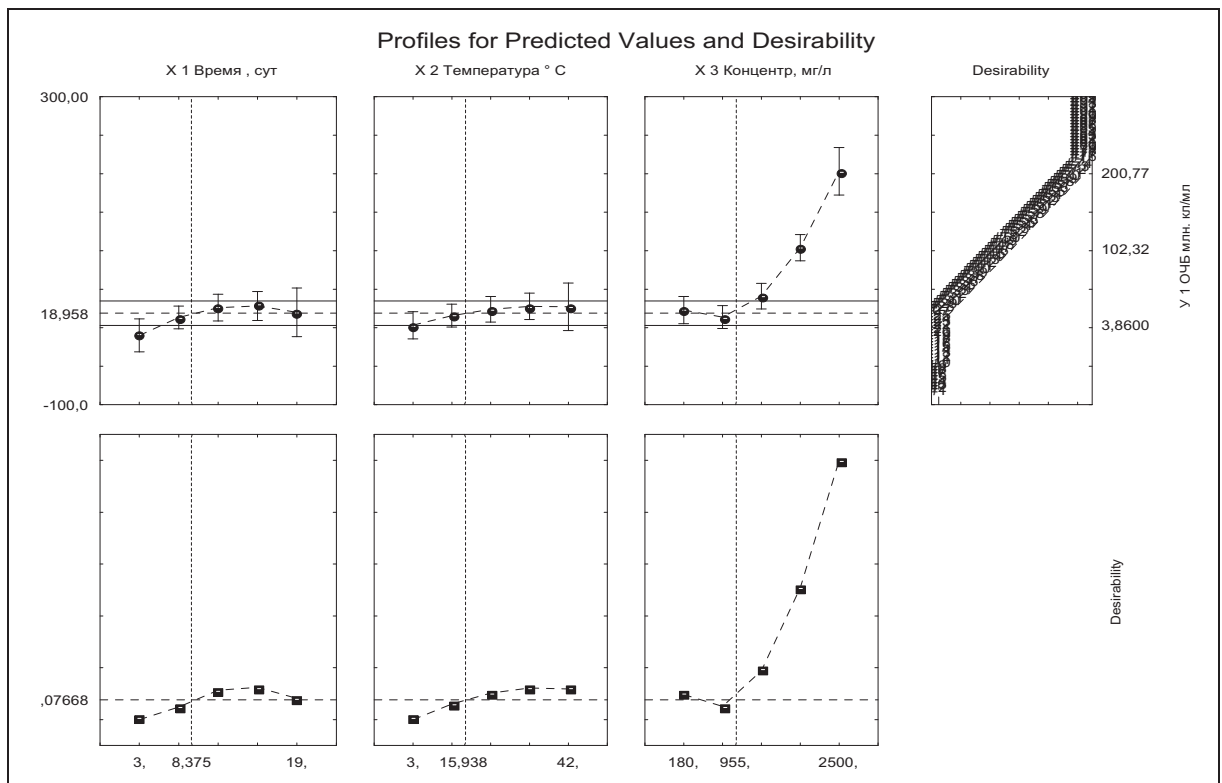


Рис. Оцінка профілю й середніх даних всіх факторів і показника (Y_1 ЗЧБ) у багатфакторному експерименті РКЦП

Як видно із цього рисунку, відзначені мінімальні помилки при зміні ЗЧБ. Час експозиції та температура задавалася з незначними коливаннями, а концентрація ОР різко зростала. На правому графіку показана мінімальна, середня й максимальна чисельність ЗЧБ бактеріопланктону. Знизу показані згідно плану експерименту, мінімальні, середні й максимальні значення досліджуваних факторів.

Обговорення. Для одержання точних і достовірних результатів необхідно велика кількість спостережень і повторностей. Використання сучасної методики постановки багатофакторних експериментів значно полегшує цю роботу. З її допомогою можна одержати ступінь впливу кожного чинника та його взаємодій, визначити основні закономірності з високою статистичною вірогідністю, досліджувати та одержати наочні графіки, провести кластерний аналіз, проаналізувати подібність досліджуваних факторів і показників. Так, наприклад, для одержання достовірних показників у РЦКП потрібно всього тільки 16 варіантів досвідів в одній повторності, тоді як у класичній методології необхідно 23 варіанти в 4 повторностях, тобто 92 визначення.

Розроблено спеціальні плани [13] повного факторного експерименту (ПФЕ), дробового факторного експерименту (ДФЕ), ортогонального центрального композиційного плану (ОЦКП), ротаційного центрального композиційного плану (РЦКП). Так, ПФЕ дозволяє встановити вплив всіх факторів їх взаємодій в експерименті, а ДФЕ визначає вплив основних факторів, але не враховує взаємодій. Якщо досліджуваний процес може мати не лінійний характер, наприклад, зі зворотною залежністю – $1/x$; квадратичної – x^2 ; або логарифмічною – $\ln x$, то застосовують ОЦКП або РЦКП. Так, в ОЦКП використовується ядро ПФЕ з додатковими зоряними крапками α - ортогональністю, а в РЦКП із α - ротатабельністю. [13]

Багатофакторний експеримент планується досить просто. Необхідно взяти межі коливань факторів на мінімальному рівні (Low) та максимальному (High) і за планом (матриці) поставити експеримент. Докладна інформація про нього наводиться в літературі [1, 3, 13, 21, 22]. Розрахунок коефіцієнтів рівняння, статистичну вірогідність, одержання графіків, кластерний аналіз проводять у програмі STATISTICA 6.0, використовуючи модуль DDE.

Можливе використання результатів багатофакторного експерименту для одержання моделей та екологічного прогнозування [16].

Таким чином, використання сучасних методик, одержання закономірностей дії різних факторів на процеси, що протікають у природних водах, значно прискорює наукові дослідження

Висновки. Високе надходження органічної речовини (X_3) – 300-2500 мг/дм³ грає дуже важливу роль у бактеріальній деструкції, будучи джерелом харчування для бактерій. Також істотно бере участь у збільшенні деструкції органічної речовини час експозиції (X_1) та температура води (X_2).

Список літератури

1. Адлер А.А. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий / Адлер А.А., Маркова Е.В., Грановский Ю.В. – М. : Наука, 1976. – 279 с.
2. Багнюк В.М. Роль целлюлозных микроорганизмов в деструкции клетчатки в Киевском водохранилище / В.М. Багнюк // Гидробиол. журн. – 1969. - 5, № 4 - С. 48-54.
3. Боровиков В.П. Прогнозирование в системе STATISTICA в среде Windows, основы теории и интенсивная практика на компьютере / В.П. Боровиков., Г.И. Ивченко. - М. : Финансы и статистика. – 2006. – 368 с.
4. Гак Д.З. Бактериопланктон и его роль в биологической продуктивности водохранилищ / Д.З. Гак.- М. : Наука, 1975. - 250 с.
5. Головки Т.В. Бактериопланктон Днепровско - Бугского лимана в условиях зарегулирования стока / Т.В. Головки // Гидробиол. журн. – 1995. – 31, № 3. – С. 59–67.
6. Головки Т.В. Бактериопланктон Каневского водохранилища и его продукционные характеристики / Головки Т.В. Якушин В.М., Тронько Н.И. // Гидробиол. журн. – 2003. - 39, № 4 – С. 58-71.
7. Драбкова В.Г. Зональное изменение интенсивности микробиологических процессов в озерах / В.Г. Драбкова. - Л.: Наука, 1981. – 212 с.
8. Закс А. Статистическое оценивание / А. Закс, под ред. В.Н. Варыгина, Ю.П. Адлера, В.Г. Горского – М. : Статистика, 1976. – 398 с.
9. Кузнецов С.И. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность / С.И. Кузнецов. - Л.: Наука, 1970. - 440 с.
10. Кузнецов С.И. Использование гуминовых кислот при развитии микобактерий / С.И. Кузнецов, И.Н. Дзюбан // Бюл. Ин-та биол. Водоохранилищ. - 1960. - № 7. - С. 3-5.
11. Кузнецов С.И. Методы изучения водных микроорганизмов / С.И. Кузнецов, Г.А. Дубинина. – М. : Наука, 1989, - 285 с.
12. Кузнецов С.И. Численность бактерий и продукция органического вещества в водной массе Рыбинского водохранилища в 1963 и 1964 гг. / Кузнецов С.И., Романенко В.И., Карпова Н.С. // Тр. Института биологии внутренних вод АН СССР. - 1966. - 13(16). Производство и круговорот органического вещества во внутренних водоемах. – С. 123-132.
13. Лысенков А.Н. Математические методы планирования многофакторных медико-биологических экспериментов / А.Н. Лысенков. – М. : Медицина - 1979. – 339 с.
14. Михайленко Л.Е. Бактериопланктон днепровских водохранилищ / Л.Е. Михайленко. – К. : ИГБ, 1999. – 300 с.
15. Мишустин Е.Н. О роли спорозоносных бактерий в почвенных процессах / Е.Н. Мишустин // Микробиология – 1978. – 17, вып. 3. - С. 201–207.
16. Розенберг Г.С. Экологическое прогнозирование /функциональные предикторы временных рядов / Розенберг Г.С., Шитиков В.К., Брусиловский П.М. – Тольятти, 1994. – С. 3-26.
17. Родина А.Г. Методы водной микробиологии (практическое руководство) / А.Г. Родина. - М.-Л : Наука, 1965. - 364 с.
18. Старосила Е.В. Новые методы в направления исследований в водной микробиологии (обзор) / Е.В. Старосила // Гидробиол. журн. – 2006. - 42, № 3 – С.51-61.
19. Штевнева А.И. Влияние температуры и обмена бактериопланктона в Южной части Байкала / А.И. Штевнева, Н.Д. Судакова // Экологические аспекты водной микробиологии. – Новосибирск : Наука, 1984. – С.130-140.
20. Якушин В.М. Бактериопланктон / В.М. Якушин, Г.М. Олійник // Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод. – К. : Логос, 2006, – С. 59-76.
21. Vox, G.E.P., Draper N.R. Empirical model-building and response surfaces. – NY : Wiley, 1987.
22. Saunders G. W. The kinetics of extracellular release of organic matter by plankton. // Vern. Integrate. Virgins. Limnol. – 1972. - 18, - P.140-146.

Дослідження деструкції органічної речовини при варіюванні різних факторів середовища у природній воді за допомогою багатфакторного експерименту

Калениченко К.П.

Проведено лабораторний багатфакторний експеримент, використавуючи ротацийний центральний композиційний план (РЦКП), з органічною речовиною (пептон), проведено визначення загальної кількості бактерій (ЗКБ) за допомогою люмінесцентної мікроскопії. Проведено розрахунок рівняння регресії за допомогою STATISTICA 6.0 Показано, що основну роль у деструкції відіграє концентрація речовини (X_3) температура води (X_2) відіграє значно меншу роль.

Ключові слова: рівняння бактеріальної деструкції, флуоресцентна мікроскопія, ротаційний центральний композиційний план (РЦКП).

Исследование деструкции органического вещества при варьировании различных факторов среды в природной воде с помощью многофакторного эксперимента

Калениченко К.П.

Проведен лабораторний багатофакторний експеримент, используя ротационный центральный композиционный план (РЦКП), с органическим веществом (пептон), проведено определение общего числа бактерий (ОЧБ) с помощью люминесцентной микроскопии. Проведен расчет уравнения регрессии с помощью STATISTICA 6.0 Показано, что основную роль в деструкции играет концентрация вещества, (X_3) температура воды (X_2) играет значительно меньшую роль.

Ключевые слова: уравнение бактеральной деструкции, флуоресцентная микроскопия, ротационный центральный композиционный план (РЦКП).

Research destructions organic substance of variation different factor environment natural waters from assistance multiple-factor experiment

Kalenichenko K.P.

Run multifactor experiment use Rotatable Centre Composite Design substance organic (peptone) identification (GNB) prompting luminescent microscopy .Obtain effect computing coefficient to - General number bacteria (GNB); result equation hand regression software STASISTICA 6.0 declared process destruction. Indicate basic role play concentration substance (X_3) temperature water (X_2) play less role and exposure time(X_1).

Keywords: hand regression destruction, luminescent microscopy, Rotatable Centre Composite Design.

Надійшла до редколегії 11.02.10

УДК (574.5:591.524.12) (282.243.742)

Гулейкова Л.В.

Институт гідробіології НАН України, м. Київ

ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ПЛАНКТОФАУНИ Р. ТЕРЕСВИ (БАСЕЙН ТИСИ) В УМОВАХ ГІДРОБУДІВНИЦТВА

Ключові слова: планктонна фауна, біорізноманіття, гірські річки, гідробудівництво, р.Тересва

Вступ. Останнім часом енергетичне освоєння водних ресурсів Карпат, особливо будівництво гідровузлів, стає дедалі актуальнішим. Крім виробництва електроенергії гідроспороди сприяють регулюванню стоку річок протягом року та згладжуванню паводкових піків у період танення снігового покриву або аномально інтенсивних опадів. Умови гірського рельєфу Закарпаття дають можливість отримувати значну кількість електроенергії, оскільки потенціальні енергетичні ресурси річок регіону достатньо великі.

Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія. – 2010. – Т.3(20)