

Е.Ю. Киселев, В.А. Румянцев, В.Н. Рыбакин

**ПРИМЕНЕНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ
ИНТЕНСИВНОСТИ ДЛЯ БОРЬБЫ С «ЦВЕТЕНИЕМ» ВОДЫ В ВОДОЕМАХ.
МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ВОДОРОСЛИ**

E.Yu. Kiselev, V.A. Rumyantsev, V.N. Rybakin

**APPLICATION OF LOW INTENSITY ULTRASOUND FOR PREVENTING
ALGAL BLOOMS IN WATER BODIES. MECHANISMS OF ACTION ON ALGAE**

Дан обзор воздействия ультразвукового излучения низкой интенсивности на водоросли. Описаны некоторые этапы развития методики и устройств для борьбы с «цветением» воды в водоемах с помощью ультразвука низкой интенсивности. Рассмотрены механизмы такого воздействия.

Ключевые слова: ультразвук низкой интенсивности, водоросли, цианобактерии, «цветение» воды, механизмы воздействия.

An overview of the effect of low intensity ultrasound on algae is provided. Some milestones in the development of the technology and devices for fighting algae growth in water bodies with the help of low intensity ultrasound are described. The mechanisms of this treatment are considered.

Key words: low intensity ultrasound, algae, cyanobacteria, algal bloom, mechanisms of action.

Посвящается А.М. Догановскому,
моему учителю и большому другу...

В.А. Румянцев

Введение

Проблема борьбы с «цветением» воды в водоемах обсуждается в научной литературе уже несколько десятилетий. Это явление, часто связанное с массовым развитием сине-зеленых водорослей, или цианобактерий, представляет серьезную экологическую опасность [2]. Озерные системы реагируют на климатические изменения, что влияет на биоценозы, и, в частности, на фитопланктон [1]. Наблюдающиеся в последнее время изменения климата делают проблему борьбы с «цветением» воды еще более актуальной. В качестве основных методов ее решения предлагаются химические, биологические, биохимические и физические подходы.

О возможности воздействия ультразвука на водоросли известно достаточно давно. Так, Вуд и Лумис в 1927 г. наблюдали разрушение водорослей *Spirogyra* и *Paramecium* под воздействием ультразвука неизвестной интенсивности [30]. В последнее время воздействие ультразвуком стало рассматриваться как достаточно перспективный метод борьбы с «цветением» воды в водоемах. Известно некоторое количество публикаций,

в которых описываются лабораторные и натурные эксперименты по воздействию ультразвука высокой интенсивности на водоросли, при этом, воздействие объясняется главным образом эффектом кавитации [33].

Однако в конце XX в. было отмечено, что борьба с водорослями в водоемах возможна и при помощи ультразвука низкой интенсивности. Уже в течение более 10 лет несколькими частными компаниями в разных странах мира производятся и продаются устройства для борьбы с водорослями в водоемах, использующие ультразвук низкой интенсивности [9]. Известны следующие производители таких устройств: Thomas-Electronics (Бельгия, устройство Aquanet и др.) [11], LG Sound (Нидерланды, устройства MPC Buoy, XXL) [7], Sonic Solutions (США, устройства серии SS) [9], Envirosonic (устройства серии ES, PVSystem) [5], Toscano Linea Electronica SL (Испания, устройство DUMO Algacleaner) [10], Algenfrei (устройства G-Sonic) [4], Flexidal Technics (устройства серии AL) [8], VoR Environmental (устройство VoR algae controller XXL) [12], Lenntech [6]. В последнее время такие устройства появляются на российском рынке, выпущена отечественная установка — Инлаб И100-34 «Альт» [3]. Судя по внешнему виду, некоторые устройства могут быть копиями или перемаркированными изделиями других производителей.

Обычно, устройства излучают колебания на частотах в диапазоне от 16 до 150 кГц [14]. Потребляемая мощность составляет от единиц до десятков ватт, дальность действия — от десятков до сотен метров. В данном случае, воздействие на водоросли и другие объекты вряд ли может объясняться явлением кавитации [33]. Для появления заметных результатов требуется достаточно много времени — до нескольких недель, устройства должны работать в течение всего вегетационного сезона водорослей для достижения наилучшего результата.

Ультразвуковые устройства для борьбы с водорослями широко рекламируются и находят своих покупателей, так устройств Thomas-Electronics продано более 15000 [11], LG Sonic — более 10000 [7]. Однако, научные испытания устройств, излучающих ультразвук малой мощности, например, таких как Sonic Solutions и LG Sonic, не распространены [33]. Значительное количество информации размещено на сайтах производителей устройств и в различных изданиях, преимущественно без ссылок на какие-либо работы, без описания условий экспериментов и методов анализа. Тем не менее, в большей или меньшей степени, такие сведения вошли в обзор.

Стоит отметить, что согласно опубликованным данным, ультразвук низкой интенсивности может оказывать селективное воздействие на определенные виды водорослей. Поэтому такая методика позволяет подавлять развитие видов водорослей, представляющих опасность. При этом влияния на остальные виды водорослей и другие организмы не оказывается, что минимизирует изменения в пищевой цепи и экосистеме [28, 19].

Некоторые этапы развития методики и устройств

Об истории развития методики борьбы с «цветением» воды с помощью ультразвука малой интенсивности известно немного. Согласно [15], устройства, упомянутые выше, могут быть вариациями лицензии на право производства, основанной на оригинальной методике, разработанной в Нидерландах около 20 лет назад.

В 1999 г. фирма Thomas Electronics выпускает свое первое устройство для борьбы с водорослями с помощью ультразвука низкой интенсивности. В 2001 г. компания Thomas Electronics патентует методику и излучатель для обработки воды в водоеме [28]. Согласно патенту, изобретение в первую очередь предполагает предупреждение роста водорослей, и не исключает подавление других организмов, таких как грибы и др. Подавление водорослей и других организмов осуществляется за счет распространения колебаний в воде. Особенно важным аспектом изобретения является то, что используются те колебания, которые разрушают организмы или их части за счет «резонансных» эффектов, создаваемых в них. Согласно патенту, предпочтительно использовать ультразвуковые колебания, в диапазоне от 20 до 35 кГц.

Фирма LG Sound наряду с научными и другими организациями участвовала в двухлетних проектах CHEM-FREE и ClearWaterPMPC, стартовавших 1 июля 2006 г. и 1 января 2012 г. соответственно. Целью первого проекта являлась разработка нехимической системы очистки воды путем интеграции облучения УФ-С, ультразвука и волоконных фильтров. Целью второго проекта являлась разработка эффективной экологически безопасной системы регулирования развития водорослей, основанной на ультразвуковой технологии, для применения на больших прудах и озерах. Проекты финансировались Европейской Комиссией, и их общие бюджеты составляли 1893080 Евро и 1383788 Евро соответственно [18, 19].

В 2013 г. компания LG Sound патентует систему и метод для предсказания, мониторинга, предупреждения и борьбы с водорослями на открытой воде [15]. Изобретение основывается на известных ранее методиках и устройствах и имеет целью повысить их эффективность, увеличить дальность действия и уменьшить необходимость обслуживания устройств, открывая возможность применения на больших озерах и открытой воде. Изобретение в дальнейшем имеет цель предоставить метод, который может быть использован для уничтожения определенного вида водорослей, не влияя на другие водоросли. Показано, что для каждого вида водорослей требуется определенная частота, с определенным выходом энергии, амплитудой, формой импульса, длительностью импульса и паузы, что позволяет точно нацеливаться на уничтожение определенных видов водорослей.

Запатентованные решения реализованы в выпускаемом LG Sound устройстве MPC Виоу, позволяющем оценивать качество воды путем определения следующих параметров: хлорофилл-а, фикоианин, рН, общее твердое взвешенное вещество, растворенный кислород, температура. Полученные данные передаются в реальном времени по радиоканалу, 3G или GPRS телеметрии для дальнейшей обработки в программном обеспечении, позволяющем предсказывать цветение и определять оптимальные параметры программы ультразвукового воздействия, основываясь на обнаруженных видах водорослей или цианобактерий [7].

Механизмы воздействия на водоросли

Как уже упоминалось, в данном обзоре речь идет об ультразвуке низкой интенсивности. Интенсивность, подразумеваемая как «низкая» может быть различной в различных областях применения ультразвука. Ультразвуковые устройства, о которых

упоминалось выше, обладают достаточно низкой потребляемой мощностью, а объемы водоемов достаточно велики. Поэтому их эффективность вряд ли может объясняться явлением кавитации. Кавитация может создаваться вблизи излучателя, где интенсивность может быть достаточной для этого. Пороговая интенсивность, при которой возникает кавитация, зависит от частоты ультразвуковых колебаний, присутствия зародышей кавитационных пузырьков, количества растворенного в воде газа и других факторов и в водопроводной воде при частоте 15 кГц равна $0,16-2 \text{ Вт/см}^2$ [13]. Такие значения в данном обзоре будут рассматриваться как разделяющие ультразвук низкой и высокой интенсивности. Во многих источниках значения интенсивности, акустического давления или других характеристик, позволяющих судить об энергии ультразвуковых колебаний, неизвестны. В этих случаях работы были включены в обзор исходя из косвенных соображений — например, принимая во внимание мощность устройства и облучаемый объем.

При использовании ультразвука низкой интенсивности эффект его воздействия часто объясняется за счет резонансных явлений, возникающих в различных элементах клеток водорослей, также могут воздействовать силы продольных и поперечных акустических волн [31]. Резонансный механизм лежит в основе гипотез, объясняющих биологические изменения, происходящие под воздействием терапевтического ультразвука низкой интенсивности. Подробнее резонансный механизм и эти гипотезы будут описаны далее.

Согласно [11], водоросли, находящиеся вблизи источника ультразвука подавляются путем разрушения клеточной мембраны. На средних расстояниях от источника разрушаются вакуоли водорослей. Водоросли, находящиеся далеко от источника погибают от вызванного стресса. Таким образом, механизмы воздействия могут быть различными в зависимости от интенсивности ультразвука, связанной с удалением от источника. Тем не менее, во многих публикациях выделяются механизмы, специфичные для определенных типов водорослей.

1. Резонансное воздействие

Механизмы биологических эффектов ультразвука можно разделить на два вида: термические и механические [30]. Термический и механический кавитационный механизмы относительно хорошо изучены. Механизмы, обуславливающие биологические эффекты при воздействии ультразвука низких интенсивностей, которые не могут быть объяснены термическими или кавитационными явлениями, изучены мало.

Примером таких эффектов могут быть увеличение выработки интерлейкина-1, интерлейкина-8, сосудистого эндотелиального фактора роста, коллагена, стимуляция восстановления костей и ускорение тромболитического под воздействием терапевтического ультразвука частоты 45 кГц в диапазоне интенсивностей от 5 до 100 мВт/см^2 [23].

Для объяснения таких явлений выдвигаются гипотезы, в основах которых лежит явление резонанса. При этом, резонансные явления могут влиять как на внутриклеточные структуры, так и на молекулы и молекулярные комплексы.

Джонс в работе [23] делает предположение, что терапевтический ультразвук может модулировать пути передачи сигнала, которые приводят к регуляции генов или модуляции трансляции РНК в белковый продукт или обоим явлениям. Обобщая имеющиеся

данные, автор делает предположение, что механическая энергия ультразвуковой волны и поперечная сила ультразвуковой волны создают механические условия, которые возмущают клеточную мембрану и молекулярные структуры внутри клетки. Гипотеза частотного резонанса подразумевает, что механическая энергия ультразвуковой волны поглощается белками, нарушая структурную конформацию одиночного белка или мультимолекулярного комплекса [23]. Более того, ультразвуковая волна может вызывать резонансную активность в белке, модулируя эффекторную функцию молекулы или мультимолекулярного комплекса.

В другой работе [27] выдвигается гипотеза, предполагающая, что относительные колебательные смещения между внутриклеточными элементами различной плотности могут происходить в клетках под воздействием терапевтического ультразвука малой интенсивности. Такие смещения могут вызывать изменения в клеточной структуре и функционировании. Авторами проведено моделирование поведения сферического объекта, представляющего типичную органеллу, такую как ядро, внутри однородной вязкоупругой среды, которая колеблется равномерно. Резонансная частота, при которой достигаются внутриклеточные колебания максимальной амплитуды, оценена в десятки — сотни кГц. Предполагается, что кумулятивный эффект, похожий на эффект усталости, лежит в основе перехода от внутриклеточной деформации к биологическим изменениям.

Также некоторые биологические эффекты воздействия некавитационного ультразвука, которые могут быть объяснены явлением резонанса, описаны в работе [13].

2. Разрушение газовых везикул и седиментация

Во многих источниках подавление цианобактерий при воздействии ультразвука низкой интенсивности объясняется разрушением газовых везикул. Само по себе разрушение газовых везикул не приводит к гибели клеток, однако плавучесть цианобактерий уменьшается, что приводит к их седиментации. Такой принцип известен относительно давно и также лежит в основе других методов борьбы с цианобактериями. Например, газовые везикулы могут разрушаться при наложении гидростатического давления. Известны практические реализации, когда такая методика оказывается эффективной [21]. Газовые везикулы могут восстанавливаться после разрушения. Скорость их восстановления зависит от освещения и количества доступных питательных веществ [21, 25]. Могут ли газовые везикулы восстанавливаться в присутствии ультразвука низкой интенсивности, пока не известно. Если у дна водоема не достаточно света, опустившиеся клетки не смогут восстановить газовые везикулы, и в случае, когда отсутствует турбулентное перемешивание, не смогут подняться в более высокие слои воды [21]. Что может происходить с водорослями, опустившимися на дно водоема, не вполне известно. Скорее всего, они могут быть разложены присутствующими в воде микроорганизмами [16]. Так же считают и другие авторы [29], но в этой работе газовые везикулы разрушались под воздействием ультразвука высокой интенсивности. В работе [22] отмечено, что в случае седиментации способность водорослей противостоять бактериям ухудшается.

Газовые везикулы могут разрушаться под воздействием ультразвука высокой интенсивности, что объясняется эффектом кавитации. Об этом упоминается в работах

[29, 25, 32]. В работах [25, 32] разрушение газовых везикул подтверждается просвечивающей электронной микроскопией.

Несмотря на то, что воздействие ультразвука низкой интенсивности на цианобактерии практически во всех источниках объясняется разрушением газовых везикул, пока надежного научного подтверждения этому в литературе не найдено. Так, например, в работе [24] в качестве основного воздействия ультразвука на цианобактерии приводится седиментация вследствие разрушения газовых везикул. При этом авторы ссылаются на работу [29], где воздействие на водоросли объясняется эффектом кавитации. В другой работе [20] авторы считают воздействие ультразвука на клетки водорослей не вполне объясненным.

Авторы [24] предполагают, что работа ультразвукового устройства LG Sonic Tank привела к седиментации водорослей. В облучаемом ультразвуком и в контрольном прудах количество видов фитопланктона составляло 7 и 26 соответственно, фитобентоса — 32 и 34 соответственно. Авторы заключают, что ультразвук эффективно удалял планктонные формы, но не был столь эффективным в удалении бентосных форм. Однако связывать результат такого эксперимента с воздействием ультразвука стоит с осторожностью, так как ультразвук применялся в комплексе с другими методами. Глубина пруда, использовавшегося в эксперименте, оказалась недостаточной — водоросли, находящиеся на дне могли фотосинтезировать. Это может создать дополнительные проблемы, когда водоросли начнут разлагаться.

3. Воздействие на другие клеточные структуры

Согласно данным, приведенным в работе [17], механизмом воздействия на водоросли *Spirogyra*, по-видимому, является разрушение связи между плазмалеммой и клеточными стенками водорослей. Это приводит к потере целостности мембраны, возможному вытеканию цитоплазмы и коллапсу клетки в плотную коричневую массу.

Согласно [16], под воздействием ультразвука, тонопласт зеленых водорослей может разрываться, при этом содержимое вакуоли попадает во внутреннюю клетку. Помимо этого, соединение клеточной мембраны и клеточной стенки может повреждаться. Также об отделении клеточной мембраны от клеточной стенки сообщается в работе [22].

Наблюдение под микроскопом нитчатых водорослей, подвергавшихся воздействию устройства LG Sonic SSS в течение двух недель, показало разрушенное содержимое клеток (хлоропласты) [26]. В емкостях масса водорослей вблизи ультразвукового устройства стала коричневой и потеряла связанность.

4. Другие механизмы

Производитель устройства Dumo Algacleaner помимо разрушения вакуолей, объясняет действие ультразвука за счет остановки деления клеток. В процессе деления клетки, когда все хромосомы присоединяются к микротрубочкам, дается сигнал перехода к анафазе, где хромосомы растягиваются в стороны этими трубочками. Любое возмущение будет дестабилизировать цепь микротрубочек. Таким образом, ультразвуковые импульсы нарушают полимеризацию микротрубочек, что в свою очередь, останавливает клеточный рост [10].

Авторы [33] в качестве возможного механизма подавления цианобактерий предлагают запрограммированную смерть клеток, ссылаясь на эффективность устройства Sonoxide.

В работе [34] показано, что ультразвуковое воздействие на частоте 1146 кГц и плотности мощности 0.0018 Вт/см³ привело к разрушению агрегатов водорослей *Microcystis Aeruginosa*. Это говорит о том, что воздействие ультразвука невысокой интенсивности может уменьшать размер колоний водорослей, что должно приводить к снижению скорости их поднятия в столбе воды, уменьшая преимущество в конкуренции с другими видами. Также водоросли с меньшим размером колоний могут быть более подвержены поеданию зоопланктоном.

Заключение

Ультразвук низкой интенсивности применяется для борьбы с водорослями в водоемах, однако у описываемых механизмов воздействия надежного научного подтверждения пока не найдено. В пользу резонансного механизма воздействия говорят гипотезы, выдвигаемые для объяснения терапевтических эффектов ультразвука низкой интенсивности. Возможность селективного воздействия на нежелательные виды водорослей является преимуществом данного метода. Однако, согласно [19], имеющиеся на данный момент устройства используют неселективные ультразвуковые программы, что снижает эффективность и создает риск воздействия на неопасные виды водорослей. Лишь LG Sound и Toscano Linea Electronica SL сообщают, что в их устройствах возможна подстройка ультразвуковой программы. Таким образом, совершенствование данной методики и разработка новых устройств представляются актуальными задачами.

Литература

1. *Догановский А.М.* Уровенный режим озер — интегральный показатель климатических и экологических изменений. // Общество. Среда. Развитие (Тerra Humana), 2007, № 1, с. 103–110.
2. *Ниязгулов У.Д., Цховребов Э.С., Церенова М.П., Юрьев К.В., Яйли Е.О.* Методы мониторинга водных экологических систем и биоресурсов. // Ученые записки РГГМУ, 2013, № 28, с. 128–132.
3. Производитель ультразвуковых устройств Инлаб. — Электронный ресурс: [<http://www.utinlab.ru/>].
4. Производитель ультразвуковых устройств Algenfrei. — Электронный ресурс: [<http://www.algenfrei.com/>].
5. Производитель ультразвуковых устройств Envirosonic. — Электронный ресурс: [<http://www.envirosonic.eu/index.htm>].
6. Производитель ультразвуковых устройств Lenntech. — Электронный ресурс: [<http://www.lenntech.de>].
7. Производитель ультразвуковых устройств LG Sound. — Электронный ресурс: [<http://www.lgsonic.com/>].
8. Производитель ультразвуковых устройств Flexidal Technics. — Электронный ресурс: [<http://www.flexidal.be>].
9. Производитель ультразвуковых устройств Sonic Solutions. — Электронный ресурс: [<http://www.sonicsolutionsllc.com/>].
10. Производитель ультразвуковых устройств Toscano Linea Electronica SL. — Электронный ресурс: [<http://www.toscano.es/en/microsites-applications/micro-water-environment/dumo-algacleaner/>].
11. Производитель ультразвуковых устройств Thomas Electronics. — Электронный ресурс: [<http://www.thomas-electronics.be>].
12. Производитель ультразвуковых устройств VoR Enviromental. — Электронный ресурс: [<http://www.vor-env.com>].
13. *Эльпинер И.Е.* Биофизика ультразвука. — М., 1973. — 384 с.

14. A system and method for predicting, monitoring, preventing and controlling algae in open water. Patent WO2013055207 (A1). — Электронный ресурс: [http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20130418&CC=WO&NR=2013055207A1&KC=A1].
15. Alternative and innovative methods for source water management of algae and cyanobacteria. Water research foundation, 2012. — Электронный ресурс: [http://www.waterrf.org/ExecutiveSummaryLibrary/4094_ProjectSummary.pdf].
16. *Brand L.* Algae and biofilm chemical-free control and treatment solution. // *Pollutionsolutions-online*, May/June 2011, pp. 4–5.
17. Centre for aquatic plant management research results 2003. — Электронный ресурс: [<http://www.envirosonic.eu/how-it-works.html>].
18. CHEM-FREE project. — Электронный ресурс: [http://cordis.europa.eu/projects/rcn/107580_en.html].
19. ClearWaterPMPC project. — Электронный ресурс: [http://cordis.europa.eu/projects/rcn/101607_en.html].
20. *Griessler Bulc T., Istenic D., Šajin-Slak A.* (2012). Ecosystem Technologies and Ecoremediation for Water Protection, Treatment and Reuse, Studies on Water Management Issues, Dr. Muthukrishnavellaisamy Kumarasamy (Ed.), ISBN: 978-953-307-961-5, InTech. — Электронный ресурс: [<http://www.intechopen.com/download/get/type/pdfs/id/26126>].
21. *Huisman J., Matthijs H.C.P., Visser P.M.* Harmful cyanobacteria. — Dordrecht, 2005. — 241 p.
22. *Hutchinson G.* Sound water practices. Ultrasonic technology controls algae and biofilm // *AWWA Opflow*, April 2008, pp. 18–19.
23. *Johns L.D.* Nonthermal effects of therapeutic ultrasound: the frequency resonance hypothesis. // *Journal of athletic training*, 2002, 37(3), pp. 293–299.
24. *Krivograd Klemenčič A., Griessler Bulc T., Balabanič D.* The effectiveness of chemical-free water treatment System combining fibre filters, ultrasound, And UV for fish farming on algal control. // *Periodicum Biologorum*, 2010, vol. 112, № 2, pp. 211–217.
25. *Lee T.J., Nakano K., Matsumura M.* A new method for the rapid evaluation of gas vacuoles regeneration and viability of cyanobacteria by flow cytometry. // *Biotechnology Letters*, 2000, 22(23), pp. 1833–1838.
26. *Mason T.J.* Sonochemistry and the environment — Providing a “green” link between chemistry, physics and engineering. // *Ultrasonics Sonochemistry*, 2007, 14, pp. 476–483.
27. *Meir O., Eitan K.* Modeling linear vibration of cell nucleus in low intensity ultrasound field. // *Ultrasound Med. Biol.*, 2009 Jun, 35(6), 1015–25.
28. Method and transducer for treating the water in a basin. Patent EP1137601 (A1). — Электронный ресурс: [http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=4&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=200111004&CC=EP&NR=1137601A1&KC=A1].
29. *Nakano K., Lee T.J., Matsumura M.* In situ algal bloom control by the integration of ultrasonic radiation and jet circulation to flushing. // *Environ. Sci Technol* 35, 2001, pp. 4941–4946.
30. *O'Brien W.D.Jr.* Ultrasound — biophysics mechanisms. // *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 93, 2007, pp. 212–255.
31. *Oyib D.H.* Water treatment by means of ultrasound. // *Everything about water*, February 09, pp. 58–62.
32. *Srisuksomwong P., Peerapornpisal Y., Nomura N., Whangchai N.* Comparative ultrasonic irradiation efficiency of *Microcystis aeruginosa* and *M. wesenbergii* from surface bloom and re-floitation behavior. // *Chiang Mai J. Sci.*, 2012, 39(4), pp. 731–735.
33. *Wu X., Joyce E.M., Mason T.J.* The effects of ultrasound on cyanobacteria. // *Harmful Algae*, 2011, № 10, pp. 738–743.
34. *Wu X., Joyce E.M., Mason T.J.* Evaluation of the mechanisms of the effect of ultrasound on *Microcystis Aeruginosa* at different ultrasonic frequencies. // *Water Research*, June 2012, vol. 46, № 9, pp. 2851–2858.