

УДК 628.166

СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ UV ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ВОДЫ ОТ ПРЕСНОВОДНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Д.Г. Семенов¹, А. А. Онищенко²

¹ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, dsem50@rambler.ru

² Российский государственный гидрометеорологический университет,
alexeyonishchenko93@mail.ru

Рассматривается один из аспектов проблемы управления балластными водами, а именно контроль качества их обеззараживания от прокариотического фитопланктона, устойчивого к различным стандартным способам дезинфекции. Задача исследования состояла в оценке эффективности судовой установки УОВ-4 в отношении обеззараживания воды от пресноводных цианобактерий. Было проведено сравнение двух методов оценки: морфологического (анализ формы клеток под микроскопом) и спектрофотометрического (светопоглощение гомогената микроорганизмов). Результаты могут быть использованы для разработки технологий контроля качества дезинфекции балластных вод от цианобактерий.

Ключевые слова: очистка балластных вод, цианобактерии, UV облучение, анализ эффективности, спектрофотометрия.

SPECTROMETRIC EVALUATION OF THE EFFICACY OF UV WATER DISINFECTION FROM FRESHWATER CYANOBACTERIA

D.G. Semenov¹, A.A. Onischenko²

¹ Pavlov Institute of Physiology of RAS

² Russian State Hydrometeorological University

One of the aspects of ballast water management, namely the quality control of water decontamination from prokaryotic phytoplankton that are resistant to a variety of standard methods of disinfection is considered. The objective of the study was to assess the efficacy of marine installation УОВ-4 in relation to disinfection of water from fresh-water cyan bacteria. The two methods of the estimation were compared: morphological (shape analysis of cells under a microscope) and spectrophotometrical (light absorption of homogenate of microorganisms). The results can be used to develop technologies of quality control of ballast water disinfection from cyan bacteria.

Keywords: ballast water management, cyan bacteria, UV radiation, efficacy, spectrophotometry.

Введение

Транспортные суда оборудованы балластными системами, позволяющими регулировать осадку, крен и дифферент в условиях меняющегося тоннажа загрузки, глубины судового хода, погодных условий и т.п. Количество принимаемого водного балласта зависит от типа судна и составляет, например, у рудовозов, до половины водоизмещения. Основные объемы балластной забортной воды закачиваются в балластные системы в акваториях, где производится разгрузка судов. Перемещаясь к месту очередной загрузки, судно «транспортирует» балластную воду иногда за десятки тысяч километров и сливает ее в акватории очередной загрузки.

В экологическом плане перенос балластных вод — это один из основных антропогенных путей глобального и массивного перераспределения водных организмов между экосистемами, который нередко вызывает экологические катастрофы в различных районах мира [1, 7]. В 2017 г. вступила в силу Международная конвенция о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими, нормы которой разрабатывались около 15 лет [4, 10].

В качестве временной меры, позволяющей уменьшить риск заражения прибрежных акваторий при сливе балластных вод, Конвенция предлагает их замену в открытом море не менее чем за 200 миль до порта приемки груза. Впрочем, для балтийских портов эта мера не решает проблему полностью. В частности, суда, направляющиеся к портам приемки российской нефти в Приморске или Усть-Луге, обменивают балластные воды до подхода к Рижскому заливу. Там цистерны пополняются водой с соленостью около 15 PSU, которая сливается в Бьёркезунде или Лужской губе, где соленость составляет 0,2 и 1 PSU соответственно. Очевидно, что это один из путей переноса балтийских соленофильных организмов в пресные воды Ленинградской области [8].

Такие планктонные цианобактерии Балтики, как *Nodularia spumigena* и *Aphanizomenon sp.*, обладают довольно высокой толерантностью к изменению солености (от 0,1 до 10 PSU), однако их видовой состав, интенсивность роста колоний и уровень продукции токсинов при цветении могут непредсказуемо изменяться с каждой ступенью изменения солености и при различных погодных условиях [11]. В особенности это относится к различным азотфиксирующим видам *Aphanizomenon*, которые в условиях пониженной солености, более высокой температуры и эвтрофированности Финского залива могут дать вспышку роста и соответствующие нарушения местных экосистем. Таким образом, борьба с эковселенцами даже путем регламентированной замены балластных вод за 200 миль до порта загрузки не решает проблему кардинально.

Иная мера — более эффективная, но и более дорогая — это обеззараживание балластных вод специальными судовыми установками. Существует несколько физических и химических способов обеззараживания балластных вод и десятки компаний, производящих соответствующее оборудование [9]. Однако следует отметить, что различные организмы обладают различной устойчивостью к применяемым методам. В связи с этим важную роль играют способы оценки эффективности методов обеззараживания в отношении различных видов фито- и зоопланктона, бентоса, моллюсков и т.п.

Одним из наиболее эффективных, недорогих и широко распространенных методов обеззараживания воды является ее облучение жестким ультрафиолетом (UV), в том числе в отечественной судовой установке обеззараживания воды УОВ-4 [2]. Вместе с тем, ряд микроорганизмов весьма устойчив и к этому воздействию. К ним относятся некоторые цианобактерии (ЦБ), геном которых формировался более двух миллиардов лет тому назад в условиях высокого уровня UV облучения Земли. Сведения о том, какими способами можно убедиться в высокой степени обеззараживания балластных вод от ЦБ, малочисленны и противоречивы. Распространенные морфологические критерии эффективности UV обеззараживания воды от зоопланктона и ряда представителей фитопланктона включают такие

параметры, как прекращение движений, деформация тел, прекращение размножения и другие признаки, которые у ЦБ при тех же дозах не наблюдаются. Очевидно, для оценки степени восприятия облучения клетками ЦБ необходимы методы, чувствительные к таким внутриклеточным процессам, которые могут быть идентифицированы как патологические. Для ЦБ это, прежде всего, нарушения ферментативных систем фотосинтеза.

Задачей настоящей работы было провести кратковременное UV облучение пресноводных ЦБ в стандартной судовой установке обеззараживания воды и сравнить чувствительность двух различных методов оценки реакции объекта на облучение: микроскопического и спектрофотометрического.

Методы

В качестве биопробы были использованы ЦБ отряда *Aphanizomenon sp.* Культура бактерий выращивалась в течение 14 дней из участка аквариумной бактериальной колонии, свободно живущей в пресной воде с соблюдением оптимального светового и температурного режима. Для UV воздействия на объект использовался судовой прибор УОВ-4, позволяющий производить облучение биопробы в спектральной области 240—290 нм мощностью около 16 мВт/см². Применялись три дозировки облучения проб длительностью 10, 20 и 30 минут.

Морфологическая оценка реагирования объекта на облучение заключалась в изучении проб под микроскопом БИОЛАМ с объективом 40х. Пробы располагали на целлулоидной препаратной пластине без фиксации в капле воды или глицерина под покровным стеклом. На период облучения пластина устанавливалась на открытое гнездо пробоотборника УОВ-4. Под микроскопом на каждом препарате выбирали определенную зону, которую фотографировали до и после воздействия. Было проанализировано не менее 10 зон для каждой длительности воздействия (рис. 1).

Спектрофотометрическая оценка проводилась при помощи портативного спектрофотометра Avantes 2048, оснащенного оптоволоконным устройством передачи падающего и отраженного света FCR-7UV200-2-VAR. Измерение свето-адсорбционных характеристик объекта производили путем его освещения полноспектральным потоком от галогенового излучателя и регистрации спектра проходящего потока [5, 6]. В этой серии экспериментов проба ЦБ помещалась в специально изготовленную капсулу из кварцевого стекла объемом 1 мл, вводимую для UV облучения в гнездо пробоотборника УОВ-4, а для оценки спектральной характеристики светопоглощения — в стальную капсулу, на дне которой располагался белый матовый отражатель.

В такой конфигурации система позволяла производить освещение гомогената ЦБ через один из рукавов Y-образного световода FCR-7UV200-2-VAR и получать отраженный от дна капсулы поток света, воспринимаемый вторым рукавом световода и анализируемый спектрофотометром Avantes 2048. При прямом и обратном прохождении света биопроба поглощает часть его интенсивности в определенных спектральных диапазонах. Обработка данных производилась с использованием возможностей программы AvaSoft 7.8 [6].

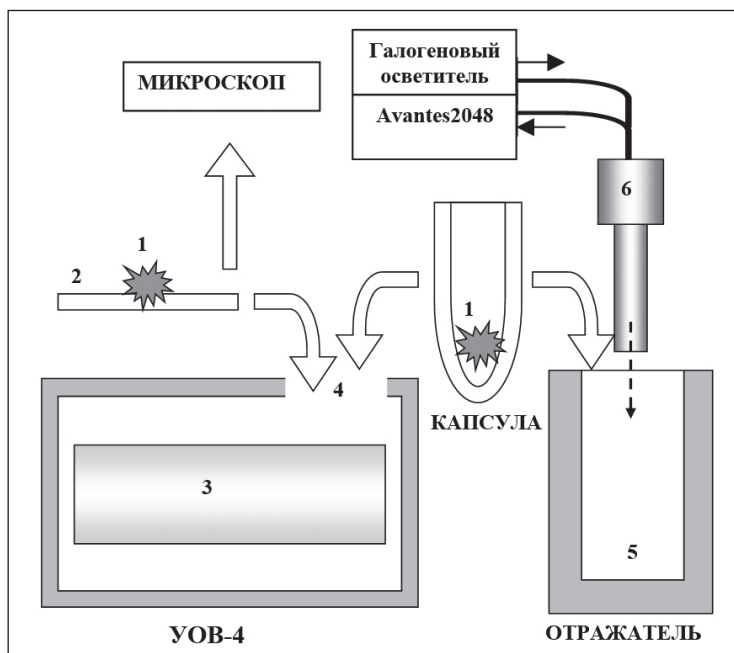


Рис. 1. Схема облучения и тестирования биопробы ЦБ.

1 — проба гомогената на препаратной пластине (2) или в кварцевой капсуле;
3 — UV лампа прибора УОВ-4; 4 — гнездо пробирки УОВ-4, 5 — стальная капсула
со светоотражающим дном, 6 — пробник прибора Avantes, FCR-7UV200-2-VAR.

Сравнение двух методов оценки эффективности действия УОВ-4 на цианобактерии

При использовании морфологического метода было установлено, что ни одна из примененных доз UV облучения культуры ЦБ *Aphanizomenon sp.* не производила заметных морфологических изменений клеток (размер, форма, оптическая плотность и т.п.) по сравнению с их состоянием до облучения (рис. 2).

В серии опытов с применением спектрофотометра было установлено, что светопропускание пробы дозозависимо повышается после облучения (рис. 3). При этом наиболее ярко эффект проявляется в трех основных спектральных областях: с максимумами 580, 660 и 710 нм. Именно в этих областях спектра происходит поглощение специфичными пигментами ЦБ данного вида: *R-фикоэритрином*, *аллофикоцианином* и *хлорофиллом-а* [3]. Такая динамика позволяет сделать предположение о том, что используемый режим облучения дозозависимо ослабляет светопоглощение и, следовательно, активность фотосинтезирующей системы ЦБ, что должно приводить к их деэнергизации и повреждению.

Заключение

Оценка эффективности воздействия UV облучения в судовой установке УОВ-4 на культуру ЦБ впервые была проведена с помощью портативного

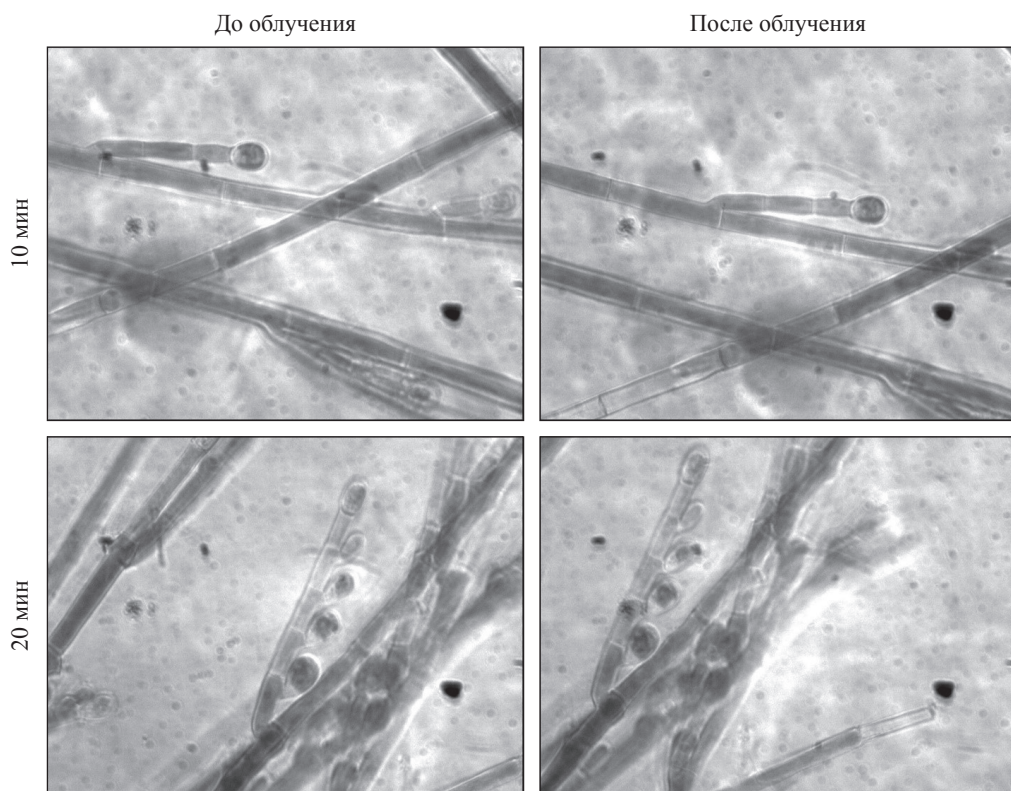


Рис. 2. Микрофотографии трех репрезентативных фрагментов культуры ЦБ.

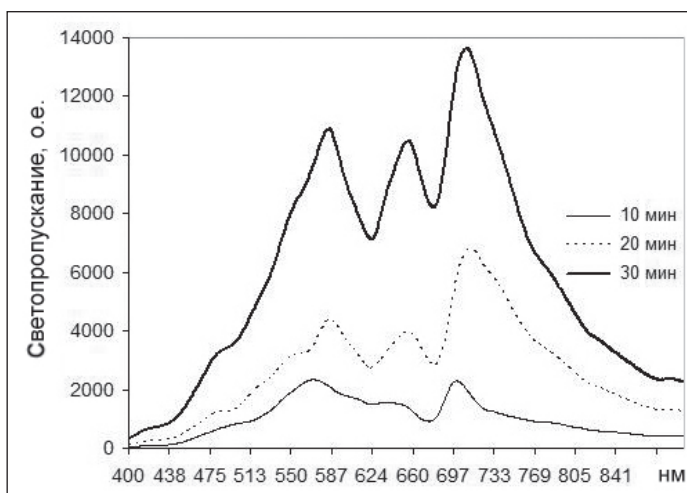


Рис. 3. Изменение пропускания света гомогенатом ЦБ в спектральном диапазоне 400—900 нм после облучения тремя дозами UV (10, 20 и 30 мин).
График пропускания необлученной пробы принят за 0.

спектрофотометра Avantes 2048. Сопоставление результатов двух примененных способов оценки реагирования культуры ЦБ показывает, что морфологический метод не позволяет выявить никакой видимой реакции объекта на облучение в рамках испытанных доз. В то же время, спектрофотометрический подход отчетливо выявляет чувствительность объекта к облучению теми же дозами, причем этот метод дает основание предположить, что примененные дозы UV облучения подавляют процессы фотосинтеза у ЦБ данного вида, что является признаком их повреждения.

Следует заметить, что при решении основной задачи исследования появилось основание сделать дополнительное заключение, касающееся способности установки УОВ-4 повреждать ЦБ при работе в штатном режиме на судне. Эта установка объемом около пяти литров облучает проточную воду с производительностью 1 л/с. Экспозиция облучения при этом составляет около 5 с. Очевидно, что доза облучения при столь высокой скорости протока будет слишком мала для ЦБ. Мы показали, что даже при экспозиции 30 мин активность ферментов фотосинтеза хотя и подавляется, но нет уверенности (без дополнительных тестов) в необратимом повреждении ЦБ. В связи с этим можно сделать вывод о том, что УОВ-4 может эффективно повреждать ЦБ лишь при условии многократного снижения производительности или при работе в замкнутой системе циркуляции.

Список литературы

1. Алимов А.Ф., Орлова М.И., Панов В.Е. Последствия интродукций чужеродных видов для водных экосистем и необходимость мероприятий по их предотвращению / В кн.: Виды-вселенцы в европейских морях России. Сборник научных трудов. — Апатиты: изд-во Кольского научного центра РАН. 2000. С. 12—23.
2. Дроздов В.В., Косенко А.В., Задевалова М.И. Экспериментальное обоснование применения ультрафиолетового обезвреживания воды для снижения риска трансграничного биологического загрязнения морских акваторий // Общество. Среда. Развитие (Terra Humana). 2013. № 3 (28). С. 257—264.
3. Карапетян Н.В. Фотосистема 1 цианобактерий: организация и функции // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 39—76.
4. Косырев И.И., Тугушев Р.У. Международная конвенция о контроле судовых балластных вод: перед ратификацией // Наука и транспорт. 2012. № 2. С. 34—35.
5. Семенов Д.Г. Спектрометры AVASPEC и их применение в медико-биологических и экологических исследованиях // Альманах современной науки и обр. 2009. № 5 (24). С. 126—129.
6. Семенов Д.Г. Оптоволоконные спектрометры в биоэкологических исследованиях. Учебное пособие. — СПб: изд-во РГГМУ, 2009. 40 с.
7. Шилин М.Б., Хаймина О.В. Прикладная морская экология. — СПб: изд-во РГГМУ. 2014. 86 с.
8. Шилин М.Б., Коузов С.А. и др. Результаты комплексных экспедиционных исследований на акватории создаваемого государственного природного заповедника «Ингерманландский» // Ученые записки РГГМУ. 2014. № 35. С. 7—30.
9. Ballast water treatment technologies and current system availability. Lloyds register. Life matters [электронный ресурс] <https://www.transportstyrelsen.se/globalassets/global/sjofart/dokument/miljoskydd/barlastvatten/bwt2012.pdf>
10. Ballast Water Management Convention [электронный ресурс] [http://www.imo.org/en/About/Conventions/ListOfConventions/Pages/International-Convention-for-the-Control-and-Management-of-Ships'-Ballast-Water-and-Sediments-\(BWM\).aspx](http://www.imo.org/en/About/Conventions/ListOfConventions/Pages/International-Convention-for-the-Control-and-Management-of-Ships'-Ballast-Water-and-Sediments-(BWM).aspx)
11. Rakko A., Seppala J. Effect of salinity on the growth rate and nutrient stoichiometry of two Baltic Sea filamentous cyanobacterial species // Estonian J. Ecology. 2014. V. 63. № 2. P. 55—70.