

УДК 614.7:613.26:632.95

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ  
БАКТЕРИЙ E.coli ПРИ ГИГИЕНИЧЕСКОМ НОРМИРОВАНИИ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ  
ПЕСТИЦИДОВ В ВОДЕ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ  
ПО ОБЩЕСАНИТАРНОМУ ПОКАЗАТЕЛЮ ВРЕДНОСТИ**

Синицына О.О., Пивнева О.С., Козырева О.Н.

ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф.Эрисмана» Роспотребнадзора, Мытищи, Россия

Одним из показателей вредности при нормировании химических веществ, включая пестициды, в воде водных объектов является их влияние на процессы самоочищения, которые при нормировании, в первую очередь, оценивают по изменению биохимического потребления кислорода (БПК). Классический метод установления пороговой концентрации (ПК) по этому показателю является времязатратным (не менее 40 дней). Поэтому **цель** работы заключалась в оценке возможности применения экспрессного метода установления ПК химических веществ по общесанитарному показателю вредности на основании изменения дегидрогеназной активности E.coli. **Материалы и методы исследования.** Исследованы действующие вещества пестицидов класса сульфонилмочевины (никосульфурон, сульфурон-метил, метсульфурон-метил, хлоримурон-этил) с установлением их ПК по влиянию на БПК общепринятым «скляночным» методом и по влиянию на изменение дегидрогеназной активности E.coli. **Результаты.** ПК по влиянию на БПК и на изменение дегидрогеназной активности E.coli составили, соответственно, никосульфурона – 0,1 мг/л, сульфурон-метила – 0,1 мг/л, метсульфурон-метила – 0,5 мг/л, хлоримурон-этила – 1,0 мг/л. **Выводы.** На примере производных сульфонилмочевины показано, что для определения ПК химических веществ в воде водных объектов по общесанитарному показателю вредности, в особенности по влиянию на БПК, возможно применение метода биотестирования с использованием фермента штамма бактерий E.coli.

**Ключевые слова:** общесанитарный показатель вредности, пороговые концентрации, водные объекты, биохимическое потребление кислорода, биотестирование, E.coli.

**Для цитирования:** Синицына О.О., Пивнева О.С., Козырева О.Н. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ E.coli ПРИ ГИГИЕНИЧЕСКОМ НОРМИРОВАНИИ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ВОДЕ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ПО ОБЩЕСАНИТАРНОМУ ПОКАЗАТЕЛЮ ВРЕДНОСТИ. Медицина труда и экология человека. 2020; 2:78-84

**Для корреспонденции:** Синицына Оксана Олеговна, зав. отделом гигиены питьевого водоснабжения и охраны водных объектов ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф.Эрисмана» Роспотребнадзора, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, e-mail: oxsin66@mail.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10212>

## USE OF THE METHOD FOR DETERMINING THE DEHYDROGENASE ACTIVITY OF E. COLI BACTERIA IN THE HYGIENIC REGULATION OF ACTIVE SUBSTANCES PESTICIDES IN THE WATER BODIES

Sinitsyna O.O., Pivneva O.S., Kozyreva O.N.

FBUN «F.F.Erisman FNTG» Rospotrebnadzor, Mytishi, Russia

*Abstract Introduction.* One of the indicators of harmfulness when rationing chemicals, including pesticides, in the water of water bodies is their influence on the processes of self-purification, which when rationing, first of all, is estimated by changing the biochemical oxygen consumption (BOD). The classic method for setting the threshold concentration (PC) for this indicator is time-consuming (at least 40 days). Therefore, the purpose of the work was to assess the possibility of using the Express method of determining the PC of chemicals according to the General sanitary indicator of harmfulness based on changes in the dehydrogenase activity of *E. coli*. *Research materials and methods.* Active substances of pesticides of the sulfonylurea class (nicosulfuron, sulfuron-methyl, metsulfuron-methyl, chlorimuron-ethyl) were studied and their PC was determined by the effect on BOD by the conventional "sklanochny" method and by the effect on the change in the dehydrogenase activity of *E. coli*. *Results.* PC on the effect on BOD and on changes in the dehydrogenase activity of *E. coli* were, respectively, nicosulfuron-0.1 mg/l, sulfuron-methyl-0.1 mg/l, metsulfuron-methyl-0.5 mg/l, chlorimuron-ethyl-1.0 mg / l. *Conclusions.* Using the example of sulfonylurea derivatives, it is shown that the method of biotesting using an enzyme of the *E. coli* strain of bacteria can be used to determine the PC of chemicals in the water of water bodies according to the General sanitary indicator of harmfulness, especially the effect on BOD.

**Keywords:** General sanitary hazard index, threshold concentrations, water bodies, biochemical oxygen consumption, biotesting, *E. coli*.

**For citation:** Sinitsyna O.O., Pivneva O.S., Kozyreva O.N. USE OF THE METHOD FOR DETERMINING THE DEHYDROGENASE ACTIVITY OF E. COLI BACTERIA IN THE HYGIENIC REGULATION OF ACTIVE SUBSTANCES PESTICIDES IN THE WATER BODIES. *Occupational Health and Human Ecology*. 2020: 2:78-84.

**For correspondence:** Oksana O. Sinitsyna, Head of the Department of hygiene of drinking water supply and protection of water bodies. FSBI, the Erisman Federal Scientific and Practical Center of Rospotrebnadzor, DMSc, MD, professor, corresponding member of RAS, e-mail: oxsin66@mail.ru

**Financing.** The study did not have sponsorship.

**Conflict of Interest:** Authors declare they have no conflict of interest.

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10212>

Широкомасштабное производство и применение средств химизации сельского хозяйства диктует необходимость разработки и совершенствования методов гигиенического нормирования пестицидов, а также их действующих веществ. Эффективность применения пестицидов доказана во всем мире, однако они могут нанести непоправимый вред объектам окружающей среды, что в конечном итоге может оказать пагубное воздействие на здоровье населения. Благодаря циркуляции в объектах окружающей среды, их можно обнаружить в почве, атмосфере, водных объектах, растениях и живых организмах [1-4, 10-12].

Водные объекты составляют значимую часть окружающей среды и играют колоссальную роль для всего живого на планете. Поведение пестицидов в водных объектах зависит от множества факторов (растворимость, летучесть, липофильность и др.). Вклад и оценка

окружающей среды для здоровья населения с каждым годом возрастает, вследствие чего охрана, мониторинг и разработка гигиенических нормативов являются приоритетными и перспективными направлениями [3, 4, 12].

Методы биотестирования применяются во многих областях науки, благодаря своей простоте, оперативности и доступности. При определении токсичности водных объектов методы биотестирования используются для интегральной оценки с применением различных тест-объектов [6-8].

Одним из методов биотестирования является метод установления токсичности проб воды с помощью определения дегидрогеназной активности бактерий *E.coli*, который позволяет оценить совокупность влияния всех токсикантов, находящихся в водной среде.

С гигиенической точки зрения наиболее значим процесс, связанный с содержанием в воде органических (нестабильных) веществ, трансформирующихся в воде путем гидролиза, окисления и других процессов, ход которых хорошо контролируется показателем биохимического потребления кислорода (БПК). Общепринятым методом определения БПК является «скляночный» метод, основанный на измерении растворенного кислорода в пробе воды непосредственно после отбора, а также после инкубации пробы на протяжении определенного периода времени (от 1 до 20 суток) [5, 9].

Вышеизложенное послужило основанием для проведения исследований в данном направлении, а также для поиска методов, которые позволят дать прогнозную оценку влияния действующих веществ при гигиеническом нормировании в воде водных объектов.

#### **Объекты и методы исследования**

Первый этап эксперимента заключался в установлении степени влияния действующих веществ класса сульфонилмочевины на биохимические процессы окисления. Исследование проводили в соответствии с РД 52.24.420-2006 «Биохимическое потребление кислорода в водах. Методика выполнения измерений скляночным методом». В качестве контрольной и разбавляющей воды использовали дехлорированную водопроводную воду с добавлением хозяйственно-бытовой сточной жидкости. Перманганатная окисляемость приготовленной смеси не превышала 5,28 мгО<sub>2</sub>/л. Воду насыщали кислородом до 8,32 мгО<sub>2</sub>/л. Весо-объемным методом готовили ряд исследуемых концентраций действующих веществ. Проводили три серии опытов для каждого вещества. Каждую серию опытов рассматривали отдельно в силу вариабельности процесса, усреднение по сериям не допускали.

Исследования выполняли со следующими представителями класса сульфонилмочевины: никосульфурон, сульфурон-метил, метсульфурон-метил, хлоримурон-этил.

Второй этап эксперимента заключался в возможности применения метода биотестирования с использованием фермента штамма бактерий *E.coli* для определения токсичности водных объектов, содержащих действующие вещества в определенных концентрациях.

Исследования проводили в соответствии с методическими рекомендациями № ЦОС ПВ Р 005-95 «Методические рекомендации по применению методов биотестирования для оценки качества воды в системах хозяйственно-бытового водопользования».

В качестве исследуемых концентраций были выбраны пороговые концентрации по общесанитарному признаку (показатель БПК), а также на порядок выше и ниже ПК, при этом учитывали растворимость действующих веществ.

При определении токсичности проб исследуемых растворов оценивали скорость обесцвечивания метиленового синего (время, мин).

Исследования, как и на первом этапе, проведены на дехлорированной водопроводной воде, исходные концентрации действующих веществ определяли весо-объемным методом. Каждый водный объект (пробу) исследовали в трех параллелях.

### Результаты исследований и их обсуждения

Результаты исследований по влиянию действующих веществ класса сульфонилмочевины на процессы биохимического окисления показали, что д.в. никосульфурон и сульфурон-метил оказывают стимулирующее действие на течение биохимических процессов окисления, а д.в. метсульфурон-метил и хлоримурон-этил ингибируют процесс. При стимуляции процесса наблюдались значения, при которых процент отклонения от контрольных проб превышал 20%, при ингибировании более (-15) %. Процент отклонения величин БПК опытных образцов и контроля находится в интервале (-28) – (+74,3) %.

Для д.в. никосульфурон в концентрациях 0,3–10,0 мг/л величины БПК воды модельных склянок выше контрольных на 21,0–66,7%. В качестве пороговой установлена концентрация 0,1 мг/л.

Для д.в. сульфурон-метил в концентрациях 0,3–5,0 мг/л величины БПК воды модельных склянок выше контрольных на 22,7–74,3%. В качестве пороговой установлена концентрация 0,1 мг/л.

Для д.в. метсульфурон-метил в концентрациях 1,0–5,0 мг/л величины БПК воды модельных склянок отличаются от контрольных на (-16,0) – (-25,0) %. В качестве пороговой установлена концентрация 0,5 мг/л.

Для д.в. хлоримурон-этил в концентрации 5,0 мг/л величины БПК воды модельных склянок отличаются от контрольных на (-18,7) – (-28,0) %. В качестве пороговой установлена концентрация 1,0 мг/л.

При определении токсичности проб воды, содержащих исследуемые д.в., проба считается токсичной, если процент отклонения от контрольных проб был на уровне более 15%.

Результаты исследований по установлению токсичности проб воды представлены в таблице.

Таблица

Токсичность проб в зависимости от концентраций действующих веществ

Название д.в.	Концентрации, мг/л	Время обесцвечивания, мин	ΔА, %
Контроль		23,28	
Никосульфурон	0,01	24,30	4,4

	0,1 (ПК)	25,54	9,7
	1,0	28,25	<b>21,3</b>
Сульфурон-метил	0,01	23,55	1,2
	0,1(ПК)	24,36	4,5
	1,0	28,15	<b>20,9</b>
Метсульфурон-метил	0,05	24,10	3,5
	0,5(ПК)	24,50	5,2
	5,0	27,48	<b>18,0</b>
Хлоримурон-этил	0,1	24,60	5,2
	1,0 (ПК)	26,18	12,5
	10,0	30,15	<b>29,5</b>

Среднее время обесцвечивания контрольных групп составило 23,28 мин, опытных образцов находилось в интервале 24,1–30,15 мин.

Исследования показали, что действующие вещества в пороговых концентрациях и концентрациях на порядок ниже не вызывают нарушения биохимических процессов и не оказывают действия на микрофлору, следовательно, не являются токсичными. Процент отклонения от контрольных проб колеблется в пределе 1,2–12,5%.

В концентрациях, которые на порядок выше пороговых, отмечено токсичное влияние на сапрофитную микрофлору, т.е. вызваны нарушения биохимических процессов, процент отклонения от контрольных проб зафиксирован на уровне 18,0–29,5%.

#### **Выводы**

Проведены исследования по установлению пороговых концентраций для действующих веществ пестицидных препаратов класса сульфонилмочевины и их влиянию на биохимическое потребление кислорода. ПК по БПК определены на уровне, для никосульфурона составили 0,1 мг/л, сульфурон-метила – 0,1 мг/л, метсульфурон-метила – 0,5 мг/л, хлоримурон-этила – 1,0 мг/л.

С помощью метода биотестирования с применением фермента штамма бактерий *E.coli* определена токсичность проб воды, содержащей действующие вещества в различных концентрациях.

Исследованиями установлено, что ПК действующих веществ по показателю БПК не оказывают токсичного действия на биохимические процессы окисления, это подтверждает и метод биотестирования, применяемый в данной работе.

Таким образом, на основании результатов исследования можно сделать вывод о возможности применения метода биотестирования с использованием фермента штамма бактерий *E.coli* при гигиеническом нормировании действующих веществ пестицидов класса сульфонилмочевины в воде водных объектов. Метод позволит сократить временные, ресурсные и

трудовые затраты на постановку эксперимента при установлении ПК веществ в воде водных объектов.

#### Список литературы:

1. Иванова Е.А., Калуженкова Ю.В. Экологические проблемы применения пестицидов. Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее образование. 2008; №1(17): 29-33.
2. Каспаров В.А., Промоненков В.К. Применение пестицидов за рубежом. М.: Агропромиздат, 1990.
3. Горбатов В.С., Филенко О.Ф., Медянкина М.В., Кононова Т.В., Оганесова Е.В. Водная экотоксикология пестицидов и современные тенденции регулирования их обращения. Вода MAGAZINE. 2013; 5 (69):10-14.
4. Захаренко В.А. Рынок пестицидов в России и перспективы его развития. Защита и карантин растений. 2014; № 11: 3-6.
5. Новиков Ю.В., Ласточкина К.О., Болдина З.Н. Методы исследования качества воды водоемов. Под ред. А. П. Шицковой. М.: Изд-во «Медицина», 1981.
6. Таранцева К.Р., Марынова М.А., Фирсова Н.В. Биотестирование как инструмент принятия экологически обоснованных технологических решений. Известия Пензинского государственного педагогического университета им. В.Г. Белинского. 2011; №25: 596-600.
7. Бубнов А.Г., Буймова С.А., Гущин А.А., Извекова Т.В. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды: учебно-методическое пособие. Иваново, 2007.
8. Ляшенко О.А. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. Под ред. Мелеховой О.П., Егоровой Е.И. М.: Издательский центр «Академия», 2010.
9. Пименова Е.В. Химические методы анализа в мониторинге водных объектов: учебное пособие. Пермь: Изд-во Пермской ГСХА, 2011.
10. Потапов А.И., Ракитский В.Н., Новиков Ю.В., Макарова Э.В., Гвозденко С.И. Современные эколого-гигиенические проблемы пестицидного загрязнения водоемов. М., 1998.
11. Прямыцин П.М. Поведение пестицидов в окружающей среде. Современные наукоемкие технологии. 2014; № 5 (2):106.
12. Ракитский В.Н. Итоги и перспективы развития гигиены и токсикологии пестицидов. Гигиена: Прошлое, настоящее, будущее. М., 2001:79-81.

#### References:

1. Ivanova E.A., Kaluzhenkova YU.V. Ekologicheskie problemy primeneniya pesticidov. Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversiteckogo kompleksa: nauka i vysshee obrazovanie. 2008; №1(17): 29-33.
2. Kasparov V.A., Promonenkov V.K. Primenenie pesticidov za rubezhom. M.: Agropromizdat, 1990.
3. Gorbатов V.S., Filenko O.F., Medyankina M.V., Kononova T.V., Oganeseva E.V. Vodnaya ekotoksikologiya pesticidov i sovremennye tendencii regulirovaniya ih obrashcheniya. Voda MAGAZINE. 2013.; № 5 (69):10-14.



4. Zaharenko V.A. Rynok pesticidov v Rossii i perspektivy ego razvitiya. Zashchita i karantin rastenij. 2014; № 11:3-6.
5. Novikov YU.V., Lastochkina K.O., Boldina Z.N. Metody issledovaniya kachestva vody vodoemov. Pod red. A. P. SHickovoj. M.: Izd-vo «Medicina», 1981.
6. Taranceva K.R., Marynova M.A., Firsova N.V. Biotestirovanie, kak instrument prinyatiya ekologicheskimi obosnovannykh tekhnologicheskikh reshenij. Izvestiya Penzinskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta im. V.G. Belinskogo. 2011; №25: 596-600.
7. Bubnov A.G., Bujmova S.A., Gushchin A.A., Izvekova T.V. Biotestovyy analiz – integral'nyj metod ocenki kachestva ob"ektov okruzhayushchej sredy: uchebno-metodicheskoe posobie. Ivanovo, 2007.
8. Lyashenko O.A. Biologicheskij kontrol' okruzhayushchej sredy: bioindikaciya i biotestirovanie. pod red. Melekhovoj O.P., Egorovoj E.I. M.: Izdatel'skij centr «Akademiya», 2010.
9. Pimenova E.V. Himicheskie metody analiza v monitoringe vodnykh ob"ektov: uchebnoe posobie. Perm': Izd-vo Permskoj GSKHA, 2011.
10. Potapov A.I., Rakitskij V.N., Novikov YU.V., Makarova E.V., Gvozdenko S.I. Sovremennye ekologo-gigienicheskie problemy pesticidnogo zagryazneniya vodoemov. M.: 1998.
11. Pryamicin P.M. Povedenie pesticidov v okruzhayushchej srede. Sovremennye naukoemkie tekhnologii. 2014; № 5 (2):106.
12. Rakitskij V.N. Itogi i perspektivy razvitiya gigeny i toksikologii pesticidov. Gigiena: Proshloe, nastoyashchee, budushchee. M.: 2001.

Поступила/Received: 05.03.2020

Принята в печать/Accepted: 13.05.2020