

УДК 613.31:628.173

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ИЗУЧЕНИЮ ПОТЕНЦИАЛА ИНТЕГРАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ И МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ОБРАЗЦОВ СТОЧНЫХ ВОД ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ РАСТВОРАМИ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ

Дроздова Е.В., Дудчик Н.В., Сычик С.И., Бурая В.В., Суравец Т.З., Гирина В.В.

РУП «Научно-практический центр гигиены», Минск, Республика Беларусь

*В статье представлены результаты оценки экотоксичности и суммарной мутагенности сточных вод, обработанных электролизным раствором гипохлорита натрия (далее – ГПХН) и электрохимически активированным раствором анолита нейтрального (далее – АН). Биотестирование проводили с использованием батареи тестов, состоящей из водных организмов различных уровней организации: водорослей *Chlorella vulgaris*, ракообразных *Daphnia magna* (Cladocera), оценку мутагенности – теста Эймса. Проведенные экспериментальные исследования по оценке экотоксичности сточных вод, обработанных растворами электролизного гипохлорита натрия и электрохимически активированного анолита из расчета содержания остаточного хлора в пределах концентраций, регламентируемых действующими ТНПА, свидетельствуют об отсутствии экотоксичности и мутагенности предложенных методов обработки. Показана необходимость проведения биотестирования и суммарной мутагенности для оценки безопасности методов обеззараживания сточных вод для окружающей среды.*

**Ключевые слова:** наноструктурированные фотокаталитически активные материалы, эффективность, модельный эксперимент

## MODELLING OF THE APPROACHES FOR ASSESSMENT THE INTEGRATED TOXICITY AND MUTAGENIC AKTIVITY POTENTIAL OF TREATED WASTEWATERS

Drozдова E.V., Dudchik N.V., Sychik S.I., Buraya V.V., Suravetz T.Z., Girina V.V.

Republican Unitary Enterprise «Scientific Practical Centre of Hygiene», Minsk, Belarus

*The article presents the results of the evaluation of ecotoxicity and mutagenicity of wastewater treated electrolytic sodium hypochlorite solution (hereinafter - GPHN) and electrochemically activated neutral anolyte solution (hereinafter - AN). The bioassay was carried out using tests battery, consisting of aquatic organisms at various levels of the organization: algae *Chlorella vulgaris*, crustacean *Daphnia magna* (Cladocera), evaluation of mutagenicity - Ames test. The experimental study to assess the ecotoxicity of waste water treated with solutions of electrolysis of sodium hypochlorite and electrochemically activated anolyte at the rate of residual chlorine in the concentration of chlorine regulated by the sanitary norms and rules, indicate the absence of the ecotoxicity of the proposed methods of treatment. The necessity of the total mutagenicity bioassay and for the assessment of environmental safety practices wastewater disinfection.*

**Key words:** photo catalytically active nanostructured materials, efficiency, model experiment

Использование в процессе водоподготовки новых реагентных методов обеззараживания сточных вод требует проведения всесторонних исследований: должна быть доказана не только эффективность метода в отношении возбудителей инфекционных заболеваний, но и их безопасность для здоровья человека и окружающей среды [1–3].

Перспективным является метод обеззараживания воды с использованием электролизного гипохлорита натрия (далее – ГПХН) и электрохимически активированного раствора анолита нейтрального (далее - АН), обладающих высокими бактерицидными, фунгицидными, спороцидными, вирулоцидными эффектами, а также низкой коррозионной и деструктивной активностью по отношению к изделиям из различных материалов.

Целью настоящей работы является изучение токсичности полученных электролизного гипохлорита натрия (далее – ГПХН) и электрохимически активированного раствора анолита (ЭАРА) нейтрального дезинфицирующих растворов для оценки безопасности предложенных методов обеззараживания сточных вод с позиции медицинской экологии.

**Материалы и методы.** Электролизный ГПХН и электрохимически активированный раствор АН получали на установке «Аквamed» УП «Акваприбор» (г. Гомель, Республика Беларусь). В результате электролиза был получен прозрачный, бесцветный раствор ГПХН с водородным показателем (рН) 8,63 единиц и содержанием активного хлора ( $C_{ax}$ ) 3752 мг/дм<sup>3</sup>. При электрохимической активации из исходного 0,3 % водно-солевого раствора был получен раствор АН с рН 6,72 единиц,  $C_{ax}$  – 146 мг/дм<sup>3</sup>. Данными растворами обрабатывались хозяйственно-бытовые сточные воды после очистки.

Оценка токсичности проводилась методом биотестирования согласно основному принципу практического лабораторного биотестирования с применением батареи чувствительных биотестов из тест-объектов основных трофических уровней гидробионтов (ракообразные – дафнии *D. magna* и водоросли хлорелла *C. vulgaris*).

Выполнены 2 серии опытов.

I этап – оценка токсичности рабочих растворов препаратов в люминесцентном бактериальном тесте, тестах на ракообразных (дафниях) и водорослях. Для исследований готовили водные рабочие растворы препаратов таким образом, чтобы концентрация остаточного активного хлора составляла 1,56 мг/дм<sup>3</sup> (при использовании ГПХН<sub>3752</sub>) и 1,7 мг/дм<sup>3</sup> (АН<sub>146</sub>).

II этап – оценка токсичности сточных вод, обработанных образцами растворов препаратов, в тестах на дафниях и водорослях. Для исследований в сточные воды вносили представленные на исследования препараты из расчета, чтобы концентрация остаточного активного хлора в сточных водах составляла 1,56 мг/дм<sup>3</sup> (при использовании ГПХН<sub>3752</sub>) и 1,7 мг/дм<sup>3</sup> (АН<sub>146</sub>).

Эксперименты проводились согласно методикам, описанным в инструкциях по применению [4-5], и стандартизованным методам ISO 6341:1996, ISO 7346-1:1996, ISO 8692:1989. Приготовление исследуемых субстратов осуществляли непосредственно перед биотестированием. Статистическая обработка данных проводилась с применением Microsoft Office Excel 2010 г.

Мутагенный потенциал образцов сточных вод, обработанных электролизными и электрохимически активированными растворами, проводили в тесте Эймса с использованием штамма *Salmonella typhimurium* TA 97 в варианте без метаболической

активации [5]. Наличие мутагенного действия регистрировали по индукции реверсий от ауксотрофности по гистидину к прототрофности у используемого штамма. Для проведения эксперимента составляли инкубационную смесь, включающую индикаторные бактерии и тестируемый препарат без использования микросомальной активирующей смеси, что позволяет оценить прямое мутагенное действие химического соединения. В качестве чистого контроля использовали стерильную дистиллированную воду, позитивного – азид натрия, индуцирующий мутации у тест-штамма. Учет результатов проводили путем подсчета количества колоний ревертантов, выросших на опытных и контрольных чашках. В каждом варианте использовали по 3 чашки. Уровень мутагенного эффекта определяли как кратность превышения числа ревертантов в опытном варианте над чистым контролем (среднее по трем чашкам).

**Результаты и обсуждение.** В 1-й серии опытов представлены результаты токсичности растворов ГПХН<sub>3752</sub> и АН<sub>146</sub> с использованием люминесцентного бактериального теста.

Выявлено, что растворы ГПХН<sub>3752</sub> и АН<sub>146</sub> обладают допустимой степенью токсичности (табл. 1).

Индекс токсичности Т<sub>ср.</sub> в результате исследований растворов ГПХН<sub>3752</sub> и АН<sub>146</sub> был соответственно равен 5 и 7 при проведении трех параллельных измерений образцов, что соответствует допустимой степени токсичности образца ( $T < 20$ ). Если  $20 \leq T < 50$ , образец является токсичным, а если  $T \geq 50$  – сильно токсичным.

Таблица 1

**Результаты оценки токсичности образцов рабочих растворов с использованием бактериального люминесцентного теста**

№ п/п	Код образца	Индекс токсичности Т <sub>ср.</sub>	Индексы токсичности Параллельных измерений			Оценка токсичности
			T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	
1	Рабочий раствор ГПХН <sub>3752</sub>	5	6	5	4	Допустимая степень
2	Рабочий раствор АН <sub>146</sub>	7	7	7	7	Допустимая степень

Оценка токсичности пробы проведена по относительному различию в интенсивности биолюминесценции контрольной и опытной проб и вычислению индекса токсичности «Т». Абсолютная величина интенсивности биолюминесценции контроля не имела принципиального значения в диапазоне допустимых значений.

Во 2-й серии опытов установлено, что сточные воды, обработанные ГПХН<sub>3752</sub> и АН<sub>146</sub>, не проявили острого токсического действия (табл. 2, 3).

Таблица 2

**Результаты оценки токсичности образцов рабочих растворов в тестах на ракообразных (дафниях)**

№ п/п	Код образца	А							Оценка токсичности
		Исх. раст - воры	разведения						
			1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	
1	Рабочий раствор ГПХН <sub>3752</sub>	10	10	10	0	0	0	0	Острое токсическое действие отсутствует
2	Рабочий раствор АН <sub>146</sub>	10	10	6,7	0	0	0	0	
3	Сточные воды, обработанные ГПХН <sub>3752</sub>	10	10	10	6,7	0	0	0	
4	Сточные воды, обработанные АН <sub>146</sub>	10	10	10	0	0	0	0	

Таблица 3

**Результаты оценки токсичности образцов рабочих растворов в тестах на водорослях**

№ п/п	Код образца	А							Оценка токсичности
		Исх. раст - воры	разведения						
			1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	
1	Рабочий раствор ГПХН <sub>3752</sub>	10	10	6,7	0	0	0	0	Острое токсическое действие отсутствует
2	Рабочий раствор АН <sub>146</sub>	10	10	3,4	0	0	0	0	
3	Сточные воды, обработанные ГПХН <sub>3752</sub>	10	10	10	6,7	0	0	0	
	Сточные воды, обработанные АН <sub>146</sub>	10	10	10	0	0	0	0	

Выводы о наличии токсичности пробы делались на основании показателя А – удельного веса иммобилизованных животных в опыте по отношению к контролю. Если  $A \leq 10\%$ , тестируемая проба не оказывает токсического действия. При  $A \geq 50\%$  животных проба проявляет токсичность. Результаты исследований показали, что исследуемые рабочие растворы, а также сточные воды, обработанные данными растворами, имели значения А менее 10 % во всех случаях.

Оценку мутагенности в тесте Эймса проводили без системы метаболической активации *in vitro*. Необходимым условием возможности учета результатов данного эксперимента считали наличие мутагенного эффекта в вариантах позитивных контролей для всех тестерных штаммов.

Подсчитывали число ревертантов, полученных на опытных и контрольных чашках, рассчитывали среднее арифметическое значение и стандартное отклонение соответственно для опыта ( $X_{оп}$ ) и контроля ( $X_{к}$ ).

Как видно из данных таблицы 4, азид натрия, использованный в качестве позитивного контроля, эффективно индуцировал мутации у тест-штамма в условиях отсутствия метаболической активации в тесте Эймса.

Количество ревертантов в контроле с растворителем в варианте без метаболической активации (контроль чистый) было в пределах колебаний спонтанного уровня для данного штамма. Ответ штамма на стандартный мутаген (контроль позитивный) был в пределах обычного уровня. Результаты таблицы 1 подтверждают, что увеличение числа колоний ревертантов тест-штамма после воздействия как образцом сточных вод после обработки ГПХН, так и после обработки АН<sub>146</sub> по отношению к контролю не было статистически значимым при  $p < 0,05$ .

Таблица 4

**Действие электрохимически активированного раствора на индикаторные штаммы в тесте Эймса на штамме *Salmonella typhimurium* TA 97**

Показатели		Число ревертантов на чашку	
		Образец сточных вод, обработанный ГПХН	Образец сточных вод, обработанный ЭАРА
X		53±2	54±8
У		1,01	1,03
X		48±5	49±5
У		0,92	0,94
X		49±3	52±6
У		0,94	1,00
Контроль чистый	X	52±3	
Позитивный контроль	X	246±16	
	У	4,73	

*Примечания: X - среднее арифметическое число ревертантов на чашку; У - соотношение среднего числа колоний ревертантов на чашку в вариантах опыта и в контроле.*

Таким образом, в условиях эксперимента образцы сточных вод после обработки ГПХН и АН<sub>146</sub> не обладают потенциальным мутагенным действием при оценке с использованием *S.typhimurium* TA 97 в условиях без метаболической активации.

**Выводы.** Оценка интегральной токсичности на дафниях и водорослях выявила, что растворы электролизного гипохлорита натрия (ГПХН<sub>3752</sub>) и электрохимически

активированного анолита (АН<sub>146</sub>) с содержанием остаточного свободного хлора 1,56 мг/дм<sup>3</sup> и 1,7 мг/дм<sup>3</sup> соответственно обладали допустимой степенью токсичности, а также сточные воды, обработанные данными растворами, не проявили острого токсического действия и не обладали потенциальным мутагенным действием при оценке с использованием *Salmonella typhimurium* TA 97 в условиях без метаболической активации.

**Заключение.** Использование в процессе водоподготовки вновь созданных препаратов требует проведения всесторонних исследований, в том числе и оценки экотоксичности остаточных концентраций этих веществ в целях обоснования их экологической безопасности. Сточные воды, обработанные дезинфектантами в рабочих концентрациях после выдерживания экспозиции, могут оказывать токсическое действие на среду обитания, что обусловлено содержанием остаточных количеств дезинфектантов.

Проведенные экспериментальные исследования по оценке экотоксичности и суммарной мутагенной активности сточных вод, обработанных растворами электролизного гипохлорита натрия и электрохимически активированного анолита из расчета содержания остаточного хлора в пределах концентраций хлора, регламентированных действующими санитарными нормами и правилами, свидетельствуют об отсутствии экотоксичности и мутагенности. Выявленные закономерности отсутствия токсического воздействия остаточных концентраций препаратов являются критерием экологической безопасности предложенных методов обеззараживания сточных вод, что определяет преимущество по сравнению с другими методами хлорирования, используемыми для обеззараживания хозяйственно-бытовых сточных вод.

#### Список литературы:

1. Научно-обоснованные подходы к выбору и контролю эффективности способа обеззараживания сточных вод / Т.С. Трешкова, Е.В. Дроздова, В.И. Ключенович // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены; гл. ред. В.П. Филонов. – Минск, 2010. – Вып. 15. – С. 153–156.
2. Эколого-гигиенические аспекты мониторинга остаточных количеств антибактериальных препаратов в объектах окружающей среды / Е.В. Дроздова, Д.С. Грек, Т.С. Трешкова // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены; гл. ред. В.П. Филонов. – Минск, 2010. – Вып. 15. – С. 50–55.
3. Оценка интегральной токсичности объектов окружающей среды методами биотестирования / В. Дудчик, Е.В. Дроздова // Достижения медицинской науки Беларуси: реценз. науч.-практ. ежегодн. / РНМБ; гл. ред. В.И. Жарко. – Минск, 2013. – Вып. 18. – С. 113–114.
4. Инструкция по оценке интегральной токсичности объектов окружающей среды методами биотестирования: утв. пост. Гл. гос. сан. врача Респ. Беларусь 12.12.2012, № 021-1112. – Минск: МЗ РБ, 2012. – 27 с.
5. Технология оценки токсичности и биологического действия потенциально опасных химических веществ с применением альтернативных тест-моделей / Застенская И.А., Дудчик Н.В., Войтович А.М., Ильюкова И.И. // Достижения медицинской науки Беларуси, 2010, № XV. – С. 100–101