

УДК 574.64:582.266.3

Куцин О. Б., аспірант

Одеський національний університет, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

БІОТЕСТУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПОБУТОВИХ ДЕТЕРГЕНТІВ З ВИКОРИСТАННЯМ МАКРОВОДОРОСТІ *CLADOPHORA VAGABUNDA* (L.) НОЕК

Проведено оцінку токсичності побутових миючих засобів СМЗ “Лотос” і “Е” за допомогою тест-об’єкта — зеленої водорості *Cladophora vagabunda*. Показано, що при низькій концентрації детергентів (100 мкг/л) дія їх на водорість в основному стимулююча, а при високих концентраціях (500 і 1000 мкг/л) — гостротоксична. Інгібується синтез хлорофілів (але зростає кількість каротиноїдів), зменшується інтенсивність фотосинтезу, приріст біомаси і вміст вітаміну С.

Ключові слова: детергенти, макрофіти, пігменти, фотосинтез, біомаса.

Екологічний стан в Українському секторі Чорного моря за останнє десятиліття покращився несуттєво, хоч більшість промислових підприємств не працює. У водному середовищі, як і раніше, присутні майже всі види забруднюючих речовин (нафтові вуглеводи, важкі метали, радіонукліди, детергенти — синтетичні поверхнево-активні речовини (СПАР) тощо) [6].

Одним із найбільш токсичних забруднювачів є СПАР. Зростаючі обсяги використання цих речовин у побуті і промисловості й, відповідно, надходження зі стічними водами у водойми може значно погіршити санітарно-гігієнічний стан поверхневих джерел води [7].

СПАР поділяються на три категорії: катіонні, аніонні і неіонні. У складі побутових миючих катіонних СПАР діючими речовинами є хлориди алкіламонія і алкілпіридинія, у складі промислових СПАР — ГПХ-3а, цетазол, пеназолін; складовими аніонних побутових СПАР є алкілкарбоксилати калію і алкілсульфати натрію, промислових — сульфонол НП-3. У побутових неіонних детергентів діючими речовинами є Твін-21 і Твін-61, а у промислових — синтанол ДС-10 [12].

Умовно катіонні детергенти називають жорсткими (повільно розкладаються, порушують рівновагу в біоценозах), а аніонні і неіонні — м’якими (швидко розкладаються і спричиняють менш токсичну дію) [2, 7]. Шкідливість дії детергентів полягає в їх безпосередньому токсичному впливі на живі організми, а також в утворенні поверхневої плівки піни, яка перешкоджає газообміну між атмосферою і гідросферою в процесі фотосинтетичної аерації-реаерації води [12].

Вплив детергентів в основному досліджували на тваринному населенні водойм [15]; щодо водоростей, то відповідних даних обмаль [8].

Мета нашої роботи — оцінити токсичність побутових аніонних детергентів як вітчизняного (“Лотос”), так і зарубіжного (“Е”) виробництва за фізіологічними показниками водоростей-макрофітів.

Матеріали та методи дослідження

Для досліду як тест-об'єкт використана зелена нитчаста водорість *Cladophora vagabunda*, яка широко розповсюджена в Чорному морі і досить толерантна [12] до умов лабораторного культивування. Досліди провадили в лабораторних умовах у чашках Петрі з об'ємом морської води 40 мл, початкова наважка водоростей — 500 мг. Всього проведено по чотири серії дослідів для обох типів пральних порошоків з концентраціями їх розчинів: 100 мкг/л (гранично-допустима концентрація, ГДК), 500 мкг/л (5 ГДК) і 1000 мкг/л (10 ГДК). Контрольні рослини експонували в чистій морській воді. Повторюваність дослідів п'ятикратна, тривалість експозиції — 21 доба, за винятком дослідів на інтенсивність фотосинтезу, які провадили в трьох часових проміжках (1, 3 і 4 години). Контроль за приростом біомаси водорості провадили щотижнево за відомою методикою [3]. Після завершення експерименту в слані кладофори визначали вміст хлорофілів "a" і "b", суми каротиноїдів [5], вміст вітаміну С — з використанням фарби Тільманса [4] і інтенсивність фотосинтезу — за методикою Вінклера [4]. Отримані цифрові дані оброблені за методом варіаційної статистики [11].

Результати досліджень

Як відомо [10], функціонування пігментної системи водоростей є визначальним моментом в їх біопродукційних процесах.

Аналіз вмісту хлорофілу "a" в слані кладофори показав, що в присутності детергента "Лотос" при збільшенні його концентрації синтез пігменту падає. Так, при концентрації забруднювача 100 мкг/л (ГДК) вміст даного пігменту вищий на 12 %, ніж у контролі, тобто виявляється певна стимулююча дія детергента. Із збільшенням концентрації останнього до 500 мкг/л (5 ГДК) цей показник не відрізняється від показника контрольних рослин. При концентрації прального порошку "Лотос" 1000 мкг/л (10 ГДК) вміст хлорофілу "a" становить лише 50 % контрольного рівня (рис. 1.).

Вміст хлорофілу "b" корелює з вмістом хлорофілу "a" (рис. 1).

Раніше нами було показано [14], що детергенти спричиняють токсичну дію на активність фермента хлорофілази, який є каталізатором реакції приєднання фітолу до хлорофіліду з утворенням хлорофілів.

Як відомо, каротиноїди є природними протекторами зелених пігментів [10]. Нами встановлено, що при збільшенні концентрації детергента вміст суми каротиноїдів зростає і, наприклад, при концентрації СМЗ "Лотос" 1000 мкг/л цей показник на 55 % вищий, ніж у контролі (рис. 1).

Деяко інша реакція кладофори виявляється за присутності у воді детергента "Е". При концентрації забруднювача 100 мкг/л і 500 мкг/л вміст хлорофілів був на 19 % вищим, ніж у контрольних рослин, і лише при концентрації 1000 мкг/л цей показник на 4 % зменшувався. Щодо вмісту каротиноїдів, то він залишався на тому ж рівні, що і в попередньому досліді (рис. 2).

Таким чином, можна вважати, що зменшення вмісту хлорофілів "a" і "b" та зростання сумарної кількості каротиноїдів є захисною реакцією водоростей на присутність у водному середовищі детергентів.

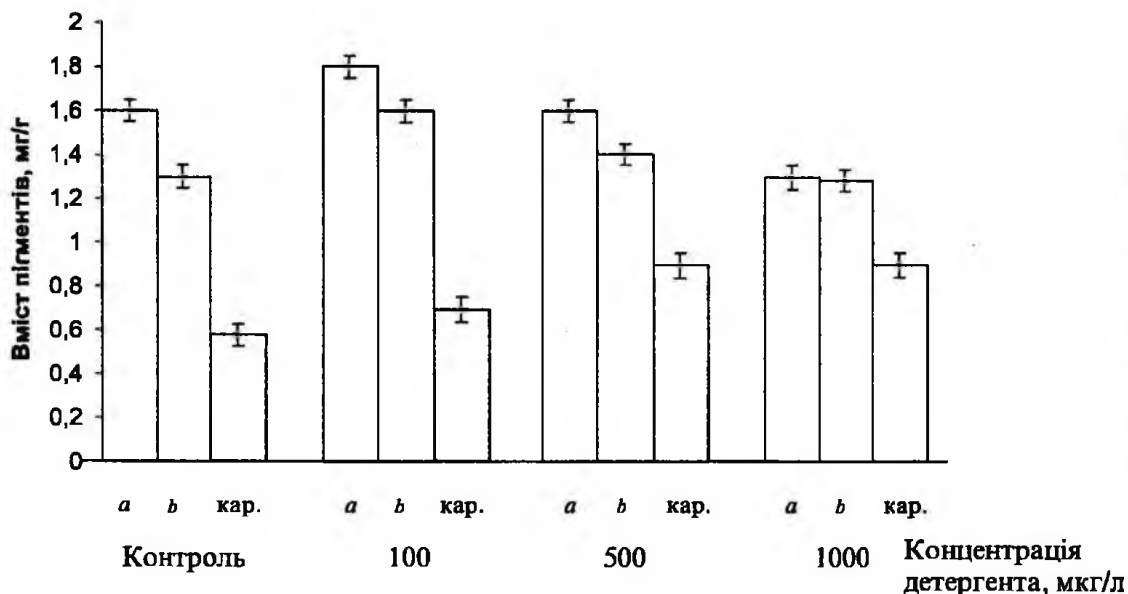


Рис. 1. Вплив синтетичного миючого засобу "Лотос" на пігментну систему *Cladophora vagabunda*: а — хлорофіл "а", б — хлорофіл "b", кар. — каротиноїди

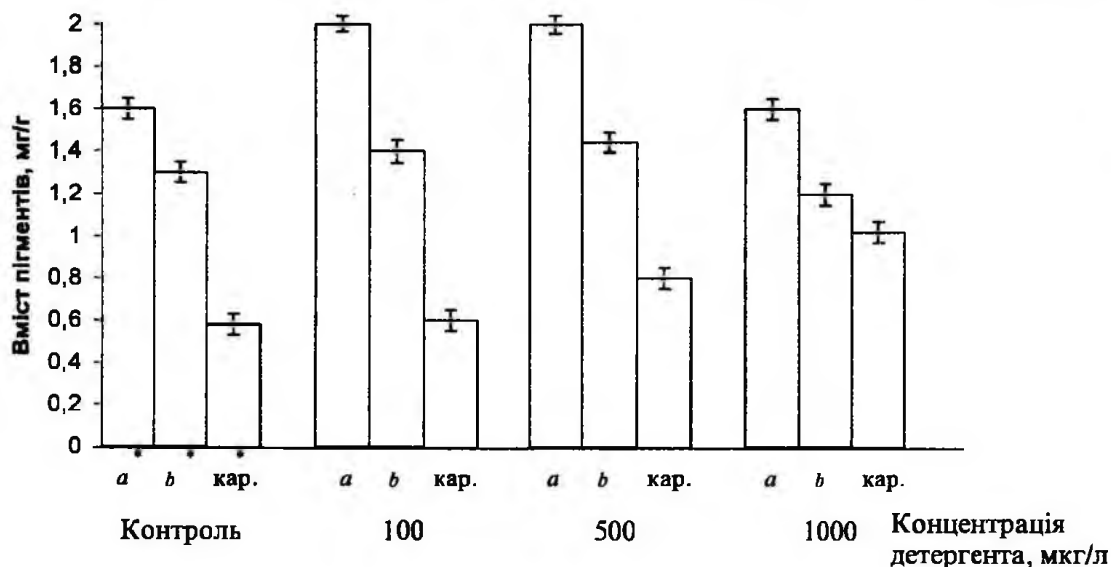


Рис. 2. Вплив синтетичного миючого засобу "Е" на пігментну систему *Cladophora vagabunda*: *а — хлорофіл "а", б — хлорофіл "b", кар. — каротиноїди

Не викликає сумніву, що зміни вмісту основних пігментів кладофори під впливом детергентів будуть впливати на інтенсивність продукційних процесів, які, як відомо [10], залежать від фотосинтезу.

Інтенсивність фотосинтезу у кладофори в присутності зазначених вище детергентів вивчали в трьох часових проміжках: 1, 3 і 4 години.

Нами встановлено, що найбільш високий показник інтенсивності фотосинтезу (ІФ) у досліджуваної водорості в усіх варіантах дослідження спостерігається у ранковий час при тривалості дії детергентів — одна година (табл. 1). Зі збільшенням часу дії детергентів (3 і 4 години) інтенсивність зазначеного процесу падає вдвічі.

Це пов'язано з добовими коливаннями активності фотосинтетичних процесів у автотрофних організмів [10].

Крім того, при тривалій (4 год) дії високої концентрації детергентів (1000 мкг/л) зростає ступінь інтоксикації водорості. Якщо порівнювати величину ІФ кладофори в присутності різних концентрацій детергентів, то легко помітити, що спостерігається обернено пропорційна залежність між кількістю забруднювача у середовищі та ІФ.

Виходячи із показника ІФ, можна зробити висновок, що дія детергента “Лотос” більш м'яка, а миючого засобу “Е” — більш токсична.

Таблиця 1

Вплив детергентів на інтенсивність фотосинтезу (мг O_2 /г·год)
зеленої водорості *Cladophora vagabunda*

Умови досліджу	Тривалість дії детергентів		
	1 год.	3 год.	4 год.
Контроль	1,55 ± 0,26	0,95 ± 0,17	0,71 ± 0,11
“Лотос”			
100 мкг/л	1,29 ± 0,31	0,86 ± 0,14	0,68 ± 0,06
500 мкг/л	0,91 ± 0,13	0,52 ± 0,07	0,43 ± 0,03
1000 мкг/л	0,60 ± 0,11	0,34 ± 0,14	0,26 ± 0,06
“Е”			
100 мкг/л	1,04 ± 0,25	0,83 ± 0,04	0,62 ± 0,03
500 мкг/л	0,91 ± 0,15	0,51 ± 0,16	0,43 ± 0,05
1000 мкг/л	0,61 ± 0,08	0,35 ± 0,14	0,26 ± 0,06

Відомо, що інтегральним показником якості водного середовища є продукція автотрофних організмів [9]. Відображенням цього показника є приріст біомаси водоростей, який залежить від функціонування пігментної системи.

Нами встановлено, що при забрудненні води синтетичним миючим засобом (СМЗ) “Лотос” до концентрації 100 мкг/л у перші 7 діб спостерігається певний стимулюючий вплив на приріст біомаси. Навіть при концентрації детергента 1000 мкг/л біомаса водоростей була більшою, ніж у контрольних рослин (рис. 3). Спостережений ефект узгоджується з описаними в літературі фазами токсикозу [9]. У кінці ж досліджу (через 21 добу) в повній мірі виявляється токсична дія високих концентрацій СМЗ “Лотос” (500 і 1000 мкг/л). Розпочинається незворотне руйнування слані, а тому біомаса кладофори стає меншою за вихідну.

Крім того, детергент істотно впливав на морфологічні параметри водорості. Із збільшенням концентрації СМЗ “Лотос” клітини слані ставали більш витонченими, слабозабарвленими, спостерігалась деяка агранульованість цитоплазми.

У присутності СМЗ “Е” ріст водорості в перші 7 діб був більш пригніченим, ніж за впливу СМЗ “Лотос”. Так, при концентрації СМЗ “Е” 100 і 500 мкг/л через 7 діб приріст біомаси водорості був відсутній. Із збільшенням строків досліджу до

21 доби спостерігалась певна адаптація кладофори до зазначених концентрацій детергента. Біомаса водоростей зростала, і навіть за концентрації СМЗ “Е” 500 мкг/л перевищувала біомасу контрольних рослин на 14 %. При концентрації 1000 мкг/л СМЗ “Е” з самого початку виявляв гостротоксичну дію. Біомаса водорості у даному варіанті досліджування постійно зменшувалась (рис. 4).

Можна припустити, що зміни біомаси досліджуваної водорості певною мірою залежать від особливостей функціонування системи фотосинтезу рослини в присутності різних концентрацій детергентів.

Клітини слані кладофори у присутності СМЗ “Е” мали інший вигляд, ніж у варіанті з СМЗ “Лотос”. Відповідною реакцією на наявність детергента “Е” можна вважати утворення клітин-акінет.

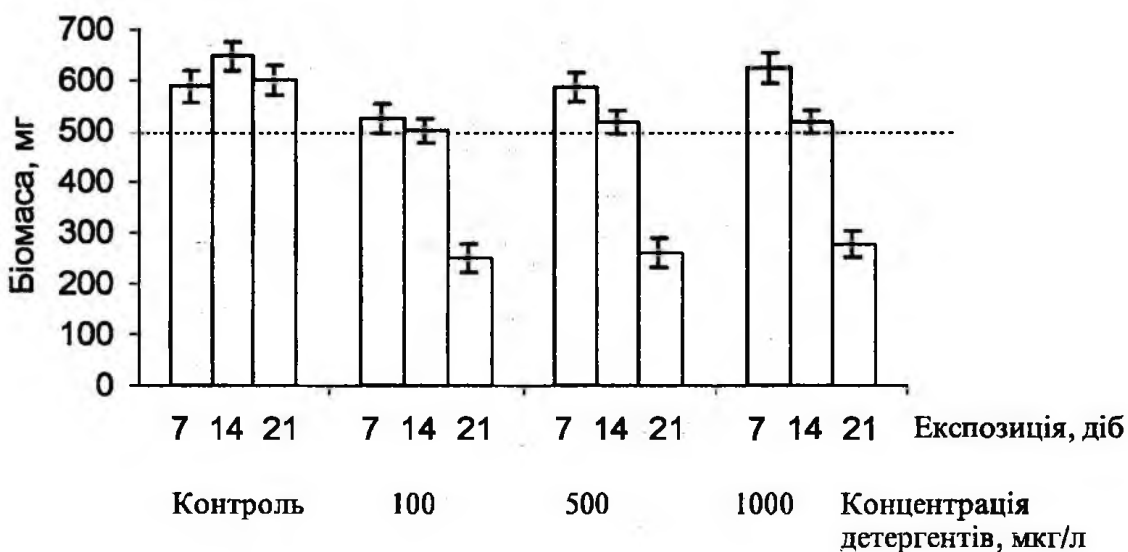


Рис. 3. Вплив синтетичного миючого засобу “Лотос” на біомасу *Cladophora vagabunda*

Крім уже зазначеного, забруднення водного середовища детергентами впливає на синтез вітаміну С (аскорбінової кислоти) і цей вплив залежить від концентрації СМЗ. Відомо [1], що вітамін С може виконувати в живих організмах специфічну антиоксидантну дію, одним із шляхів якої є регенерація відновленої форми заліза, тобто знешкодження високоактивної молекулярної структури $Fe^{3+}-O^{\cdot}$.

Надлишок молекулярної форми ($Fe^{3+} - O^{\cdot}$) стимулює реакції перекисного окислення біомолекул. З цим, можливо, пов'язане порушення бар'єрних функцій мембран клітини кладофори, що сприяє проникненню через них детергентів і токсичній дії останніх.

Проведений нами дослід засвідчив, що детергенти зменшують вміст аскорбінової кислоти. Для СМЗ “Лотос” при концентрації забруднювача 100 мкг/л вміст вітаміну С складає в слані кладофори 75 % від контролю; при 500 мкг/л — 84 %, а при 1000 мкг/л — лише 38 % (табл. 2).

Таку ж токсичну дію на вміст вітаміну С спричиняв і СМЗ “Е”, але реакція клітин слані кладофори була дещо аномальною. Зі збільшенням концентрації детергента від 100 до 1000 мкг/л зростав і вміст аскорбінової кислоти, але по відношенню до контролю він залишався значно меншим (табл. 2).

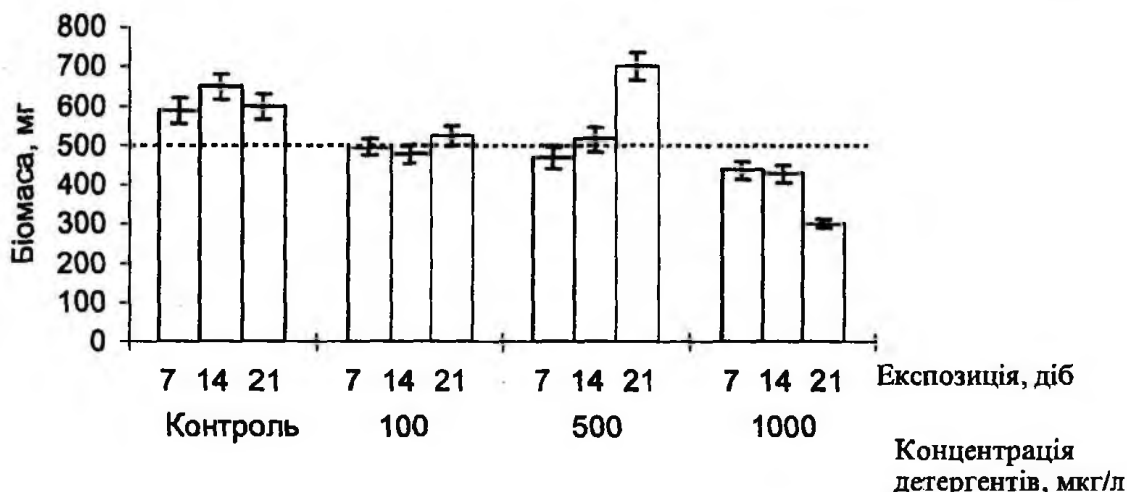


Рис. 4. Вплив синтетичного миючого засобу "Е" на біомасу *Cladophora vagabunda*

Таблиця 2

Вплив детергентів на вміст аскорбінової кислоти в слані *Cladophora vagabunda*

Умови досліджу	Вміст вітаміну С (мг %)	% від контролю
Контроль (без детергентів)	44,0 ± 0,3	100
"Лотос"		
100 мкг/л	33,0 ± 0,6	75
500 мкг/л	37,0 ± 1,1	84
1000 мкг/л	16,8 ± 0,6	38
"Е"		
100 мкг/л	20,5 ± 0,2	47
500 мкг/л	23,6 ± 1,1	55
1000 мкг/л	27,0 ± 0,5	61

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що використовувані у побуті СМЗ є токсичними для водоростей-макрофітів. Вони інгібують продукційні процеси в сланях водоростей, що негативно впливає на продуктивність водних біоценозів.

Література

1. Губський Ю. І. Біологічна хімія. — Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. — 507 с.
2. Калиниченко К. П. Определение катионных поверхностно-активных веществ в природных водах // Гидробиол. журн., — 1996. — Т. 32, № 6. — С. 80-85.
3. Калугина-Гутник А. А. Фитобентос Черного моря. — Киев: Наук. думка, 1975. — 247 с.
4. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Под ред. Л. А. Сиренко. — К.: Наук. думка, 1975. — 247 с.

5. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: ВО "Агропромиздат", 1987. — 430 с.
6. Михайлов В. И., Лисовский Р. И. Экологические проблемы Черного моря // Экологические проблемы городов, рекреационных зон и природоохранных территорий: Сб. науч. статей. — Одесса: ОЦНТЭИ, 2000. — С. 122-123.
7. Очистка производственных сточных вод / Под ред. Ю. И. Гурского. с Л.: Химия, 1997, — 331 с.
8. Паришкова Т. В., Негруцкий С. Ф. Влияние поверхностно-активных веществ на водоросли (обзор) // Гидробиол. ж. — 1988. — Т. 24, № 6, — С. 46-58.
9. Патин С. А. Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность Мирового океана. — М.: Пищ. пром-сть, 1979. — 304 с.
10. Рейн П., Эверт Р., Айкхорн С. Современная ботаника в 2-х томах, Т. 1. — М.: Мир, 1990. — 347 с.
11. Рокицкий П. Ф. Основы вариационной статистики для биологии. — Минск: Высшая школа, 1961. — 253 с.
12. Стрельцова Е. А., Хромыхова Е. А., Воловач О. В., Мунтян О. Г. Очистка сточных вод от поверхностно-активных веществ флотацией // Экологические проблемы городов, рекреационных зон и природоохранных территорий: Сб. науч. ст. — Одесса: ОЦНТЭИ, 2000. — С. 270-273.
13. Ткаченко Ф. П. Кладифоры северо-западной части Черного моря и их значение в биологической оценке воды. Автореф. дисс... канд. биол. наук. — Кишинев, 1981. — 23 с.
14. Ткаченко Ф. П., Куцын Е. Б. Влияние детергентов на некоторые физиологические параметры зеленой водоросли *Cladophora vagabunda* (L.) Ноек // Экологические проблемы Черного моря: пути и методы решения: Сб. науч. ст. — Одесса: ОЦНТЭИ, 1999. — С. 294-297.
15. Trzebiatowski R. Szkodliwosc detergentow dla ryb i innych organizmow wodnych // Gosp. rybna, 1973. — V. 25, № 1. — P. 13-14.

Куцын Е. Б.

Одесский национальный университет, кафедра ботаники,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

**БИОТЕСТИРОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ БЫТОВЫХ ДЕТЕРГЕНТОВ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАКРОВОДОРОСЛИ
CLADOPHORA VAGABUNDA (L.) НОЕК**

Резюме

Проведена оценка токсичности бытовых моющих средств СМС "Лотос" и "Е" с помощью тест-объекта — зеленой водоросли *Cladophora vagabunda*.

Показано, что при низкой концентрации детергентов (100 мкг/л) их действие на водоросль, в основном, стимулирующее, а при высоких концентрациях (500 и 1000 мкг/л) — остро токсическое. Уменьшается количество хлорофиллов (но увеличивается содержание каротиноидов), уменьшается интенсивность фотосинтеза, прирост биомассы и содержание витамина С.

Ключевые слова: детергенты, макрофиты, пигменты, фотосинтез, биомасса.

Kutsin E. B.

Odessa National University, Department of Botany,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**BIOTESTING OF THE TOXICITY OF WIDELY-USED DETERGENTS BY USING
MACROALGA *CLADOPHORA VAGABUNDA* (L.) HOEK**

Summary

The analysis of toxicity of widely-used detergents SWM "Lotos" and "E" using a test-object green wateralga *Cladophora vagabunda* (L.) Hoek has been carried out.

It has been shown that under the low concentration of detergents (100 mkg/l) their effect on the water-plant is, mainly, stimulating, and under high concentrations (500 and 1000 mkg /l) it is very toxic. The synthesis of chlorophylls has been inhibited (but the amount of carotinoids has extended), the intensity of photosynthesis, the increase of biomass and the amount of vitamin C has been decreased.

Keywords: detergent, macrophites, pigments, photosynthesis.