

УДК 621.3.035.221.722

Е. А. Новоселова^а, И. Л. Скрипник^б, Д. В. Савельев^б, Т. Т. Каверзнева^в

^а АО НДЦ НПФ «Русская лаборатория»

^б Санкт-Петербургский университет Государственной противопожарной службы МЧС России

^в Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ЭКСПРЕСС-БИОИНДИКАЦИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ДРОЖЖЕВЫМИ ГРИБКАМИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ РТУТЬЮ НА ОСНОВЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ И ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Приведены основные результаты определения наличия ртути в компонентах окружающей среды методом экспресс-биоиндикации дрожжевыми грибами. Установлено, что соли ртути способствуют быстрому выделению углекислого газа при любых представленных в статье концентрациях, если происходит перемешивание культуральной среды. Выявлена зависимость увеличения скорости выделения углекислого газа дрожжевыми грибами при постоянной обработке воды переменным частотно-модулированным сигналом.

К л ю ч е в ы е с л о в а: ртуть, углекислый газ, натрий, питательная среда, электрофизическое воздействие.

Введение

За последние десятилетия объемы добычи и переработки нефти и газа существенно возросли [1, 2]. Одновременно с этим запасы наиболее качественного сырья существенно снизились. В освоение включаются месторождения, обогащенные тяжелыми металлами (ртутью), влияющие на экологическую обстановку в местах добычи [3, 4]. В настоящее время отсутствуют доступные апробированные методы контроля количества ртути в компонентах окружающей среды, удовлетворяющие таким требованиям, как высокая скорость определения наличия ртути в общем составе, точность выполнения ее количественного определения, дешевизна и простота использования метода определения ртути, применение которого позволит совершенствовать мероприятия по обеспечению выявления и контроля источников химической опасности [5]. Однако имеются исследования, направленные на изучение уровня накопления ртути в водных растениях как показателя загрязнения водоемов [6, 7].

С этой целью ранее разработан метод экспресс-биоиндикации дрожжевыми грибами вида *Saccharomyces cerevisiae* загрязнений окружающей среды ртутью [8], основанный на измерении приращении скорости процесса сбраживания углеводсодержащих композиций (культуральных сред) дрожжами при изменении концентраций токсиканта — тяжелого металла (катиона ртути). На основе разработанного метода выполнена оценка возможности управления этим процессом инженерными методами воздействия, в частности, снижения токсического действия ртути электрофизическим воздействием прибора «МАГ» на сбраживание дрожжей.

Методы и материалы

Для экспериментальных исследований в качестве питательной среды использовался 36%-й раствор сахара ($4 \pm 0,02$ г на 25 мл воды) при температуре

22 ± 2 °С. Производился засев дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в питательную среду по $2 \pm 0,02$ г в каждую колбу с интервалом 1...2 мин, далее смесь перемешивалась стеклянной палочкой при 25...30 С, и колбы подсоединялись к разработанной установке. С таким же интервалом проводились замеры при эксперименте. При анализе полученных результатов предыдущих экспериментов выявлено, что процесс идет быстрее и нагляднее при постоянном перемешивании культуральной жидкости в колбе. В качестве прибора, осуществляющего данный процесс, выбрана магнитная мешалка ПЭ-6100.

Проведение эксперимента и результаты

Эксперимент серии 1—1 проводился параллельно на двух элементах установки и в два этапа. Исследования проведены с добавлением концентраций соли ртути $HgCl_2$: 69,4 мг/л (1:10) — I; 6,94 мг/л (1:100) — II; 0,694 мг/л (1:1000) — III; 0,0694 мг/л (1:10000) — IV, но уже устанавливая колбы с культуральной жидкостью на магнитные мешалки. На первом этапе культура засеяна в питательные среды с концентрациями соли $HgCl_2$ 69,4 мг/л и 6,94 мг/л (табл. 1, I и II кривые рис. 1) в двух колбах, а на втором — культура засеяна в питательные среды с концентрациями соли $HgCl_2$ 0,694 мг/л и 0,0694 мг/л (III и IV кривые рис. 1). Также на втором этапе принято решение добавить в питательную среду немного больше кипяченой воды, т. е. не 25 мл, а 35 мл. Так как эксперимент проводился в две стадии, то вычисление средних значений и погрешностей проведено для двух стадий как в данном опыте, так и в последующих, поскольку не исключается возможность их проведения в разные дни, т. е. результаты сопоставлять не следует.

Таблица 1

Результаты измерений скорости выделения углекислого газа при исследовании влияния токсикантов (эксперимент 1—1)

Номера элементов установки	Длительность, мин						
	Без добавления $HgCl_2$			После добавления $HgCl_2$			
	10	15	20	25	30	35	40
I	10,17	9,68	5,08	5,56	6,06	6,20	6,28
II	10,52	9,84	3,15	3,21	3,55	4,25	4,75
Среднее значение V_{cp}	10,35	9,76	4,11	4,39	4,80	5,23	5,52
Погрешность $((V_{cp} - V)/V_{cp})100, \%$	1,74	0,82	23,6	26,88	2,04	17,51	13,77
III	12,63	10,34	3,79	4,43	4,69	5,08	5,15
IV	11,53	10,00	4,82	5,08	5,68	6,42	6,57
Среднее значение V_{cp}	12,08	10,17	4,35	4,75	5,16	5,75	5,86
Погрешность $((V_{cp} - V)/V_{cp})100, \%$	4,55	1,67	10,57	6,95	9,69	11,65	12,12

В серии экспериментов 1—2 произвели замену соли $HgCl_2$ на $NaCl$. Количество ионов Na^+ взято такое же, как использованное ранее количество ионов Hg^{2+} , т. е. необходимо растворить 0,267 г $NaCl$ в 0,5 л воды или 0,534 г на 1 л и так же распределить на четыре концентрации, как соль ртути $HgCl_2$. Это соответствует одинаковому мольному количеству катионов этих солей в питательной среде в различных экспериментах. Эксперимент проводился с использованием тех же магнитных мешалок, при постоянном перемешивании и

в два этапа: на первом культура засеяна в питательные среды с концентрациями соли NaCl 14,8 мг/л и 1,48 мг/л (I и II кривые рис. 2) соответственно в первую и во вторую колбу, на втором — культура засеяна в питательные среды с концентрациями NaCl 0,148 мг/л и 0,0148 мг/л (III и IV кривые рис. 2).

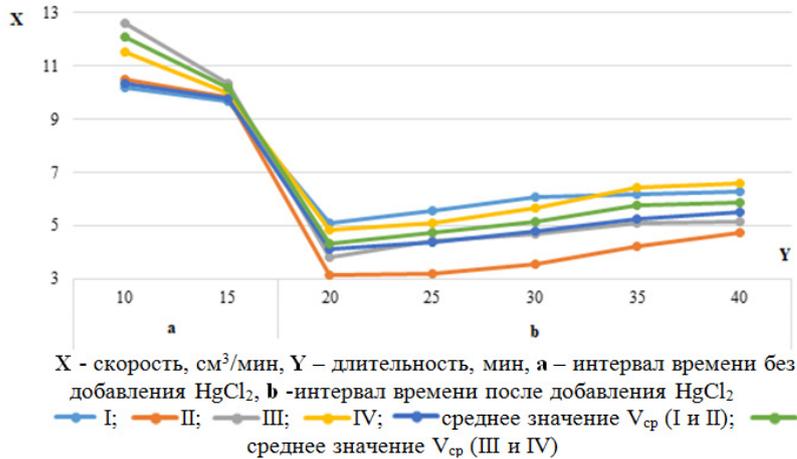


Рис. 1. Результаты измерения скорости выделения CO₂ дрожжами, засеянными в питательную среду, содержащую HgCl₂, при перемешивании культуральной среды

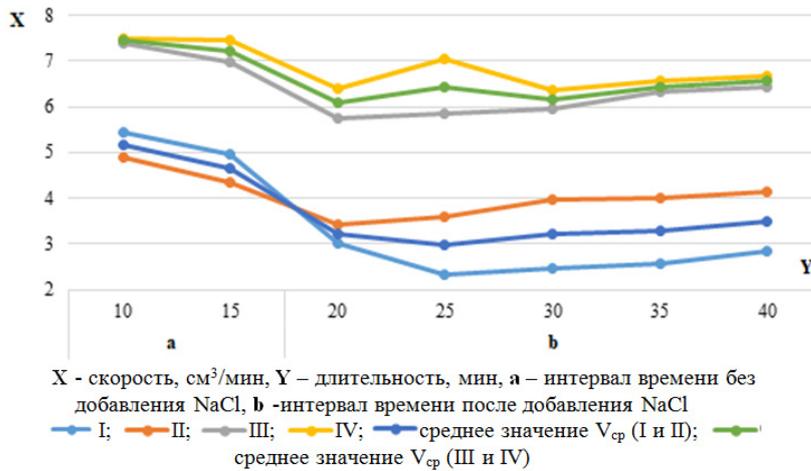


Рис. 2. Результаты измерения скорости выделения CO₂ дрожжами, засеянными в питательную среду, содержащую соль NaCl, при перемешивании в колбе магнитными мешалками

Далее проводили эксперимент второй серии 2—1 с солью Hg(NO₃)₂, в котором на первом этапе культура засеяна в питательные среды с концентрациями Hg(NO₃)₂ 85 мг/л и 8,5 мг/л соответственно в двух колбах, а во втором — культура засеяна в питательные среды с концентрациями соли Hg(NO₃)₂ 0,85 мг/л и 0,085 мг/л. Причем по массе взяли 1,53 г Hg(NO₃)₂ на 0,5 л воды, так чтобы количество катионов ртути в нитрате в мольном соотношении было таким же, как количество катионов ртути в хлориде (рис. 3).

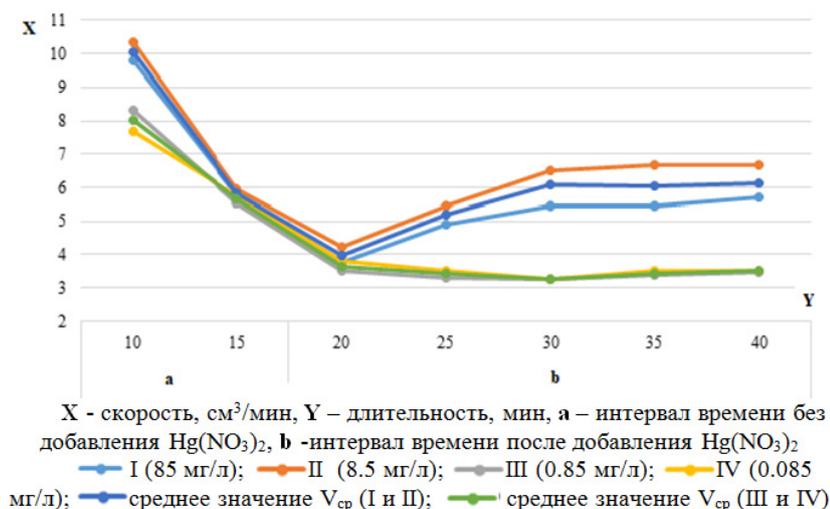


Рис. 3. Результаты измерения скорости выделения CO_2 дрожжами, засеянными в питательную среду, содержащую соль $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$

В серии экспериментов 2—2 заменили $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ на азотнокислый натрий NaNO_3 . Причем количество ионов Na^+ взято такое же, как использовалось ранее количество ионов Hg^{2+} , т. е. необходимо растворить 0,41 г NaNO_3 в 0,5 л воды или 0,82 г на 1 л. Это будет соответствовать одинаковому мольному количеству катионов в питательной среде в различных экспериментах.

Эксперимент проводился также в два этапа. И в первом, и во втором случае культура засеяна в питательные среды двух колб, но с разной концентрацией соли NaNO_3 (рис. 4):

- на первом этапе концентрация в двух колбах составила — 22,7 мг/л и 2,27 мг/л;
- на втором — 0,227 мг/л и 0,0227 мг/л.

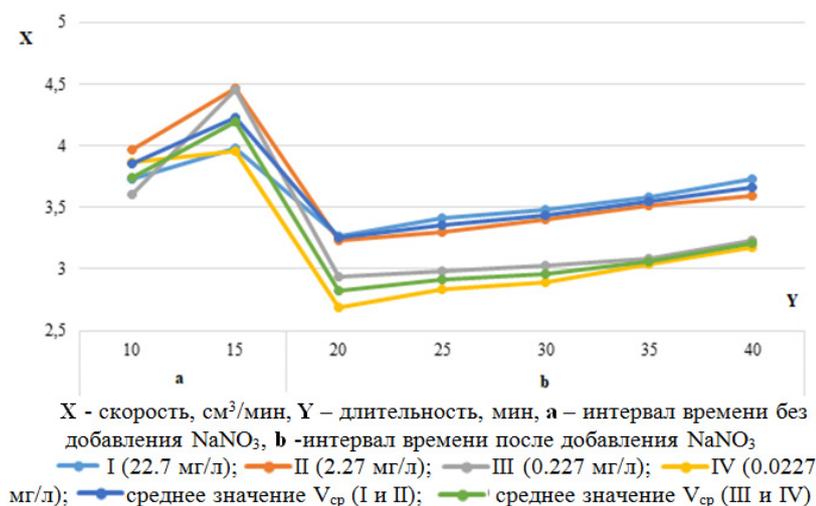


Рис. 4. Результаты измерения скорости выделения CO_2 дрожжами, засеянными в питательную среду, содержащую соль NaNO_3

Исследование влияния электрофизического воздействия на процесс брожения проводилось с целью изучения влияния переменного частотно-модулированного сигнала (ПЧМС) прибора «МАГ» на биоактивность микроорганизмов в культуральной среде.

Обработка ПЧМС выполнялась двумя этапами: сначала обрабатывался непосредственно процесс брожения в одной колбе, вторая находилась без обработки прибором «МАГ», на втором — то же самое для подтверждения результата. Ставилась задача выяснить, какое воздействие (отрицательное или положительное) оказывает ПЧМС на жизнедеятельность микроорганизмов.

Обработка воды ПЧМС проводилась в режиме постоянного действия [9]. Для постоянной обработки воды (т. е. водной фазы в коллоидном растворе сахара объемом 35 мл с микробиологической средой) ПЧМС подавался на полоску фольги, герметизированную обильной биологически инертной смазкой в шлифе колбы, подсоединенной к установке. Один конец полоски, размером 15×180 мм погружался в жидкость в колбе на глубину 5 ± 1 мм, другой выводился из шлифа наружу и присоединялся к зажимному контакту прибора «МАГ». Эксперимент проводился с изолированием колб (с обработанной водой и без обработки) от внешнего магнитного воздействия оборачиванием их в металлическую фольгу размером 130×400 мм (табл. 2, рис. 5). Опыт проводился прямой обработкой процесса брожения электрофизическим воздействием. Подключение ПЧМС в опыте происходило на 20-й минуте.

Таблица 2

Результаты измерений скорости выделения углекислого газа при исследовании влияния электрофизической обработки

Номера элементов установки	Длительность, мин						
	10	15	20	25	30	35	40
I (с обработкой)	9,80	7,72	7,84	7,98	8,45	8,82	10,50
II (без обработки)	8,70	7,55	8,50	8,89	8,96	9,09	10,76
Среднее значение V_{cp}	9,25	7,64	8,17	8,44	8,71	8,96	10,63
Погрешность $((V_{cp} - V)/V_{cp}) \times 100, \%$	5,95	1,18	4,04	5,45	2,99	1,56	1,22

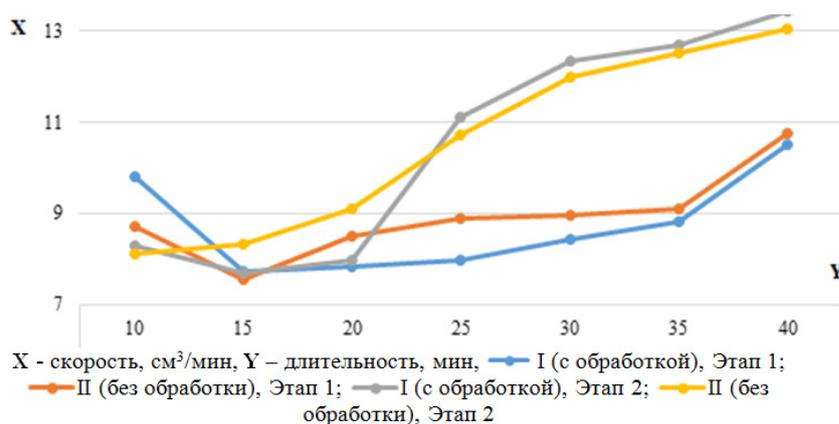


Рис. 5. Результаты измерения скорости выделения CO₂ дрожжами, засеянными в питательную среду, находящуюся под влиянием электрофизического воздействия (ПЧМС)

Обсуждение

При добавлении в колбу HgCl_2 после резкого падения скорости выделения CO_2 происходит ее медленное повышение, следовательно, хлорид ртути благоприятно влияет на развитие дрожжей и не проявляет своих токсичных свойств. Также возможными причинами, вызвавшими повышение скорости выделения CO_2 , могут являться быстрое размножение дрожжевых грибов в культуральной среде либо быстрое использование ими сахара как элемента питательной среды.

На основании данных, полученных в ходе исследований (эксперимент 1—1), сделан вывод о несопоставимости результатов, полученных в разные дни, из-за возможного влияния изменений условий окружающей среды на жизнедеятельность дрожжей в процессе брожения. Принято решение дальнейшие результаты для сопоставления и их обсуждения производить на установке строго в параллельном режиме.

По результатам данных рис. 2 установлено, что NaCl с концентрацией 14,8 мг/л ухудшает развитие дрожжей в отличие от HgCl_2 с такой же концентрацией и дает некоторое снижение скорости выделения CO_2 до 25-й минуты, но затем скорость увеличивается, а значит идет улучшение жизнедеятельности дрожжей [8]. Погрешность эксперимента остается достаточно высокой для первых концентраций — 18,29 % (в точке их пересечения) и становится низкой для III и IV концентраций — 1,83 % (в этой же точке, но для других кривых), что объясняется, возможно, влиянием на процесс брожения различных изменений температуры или давления в лаборатории.

Исходя из анализа данных рис. 3 установлено, что добавленный в культуральной жидкости нитрат ртути $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ с концентрациями 85 и 8,5 мг/л (соответственно I и II кривые) в растворе не проявляет токсичные свойства и способствует высокой скорости выделения углекислого газа по сравнению с III и IV кривыми (концентрация 0,85 и 0,085 мг/л соответственно), которые отображают снижение скорости выделения CO_2 .

Погрешность на первом этапе получилась выше желаемой нормы (5 %) и составила — 8,17 %, причиной, возможно, также могут являться не лучшие условия для роста дрожжей. Хотя на втором этапе погрешность составила 0,57 %, что подтверждает достоверность результатов.

Анализ рис. 4 показывает, что добавленный в культуральную жидкость азотнокислый натрий NaNO_3 способствует повышению скорости выделения углекислого газа после 20-й минуты, т. е. оказывает в заданных пределах концентраций положительное влияние на рост и развитие дрожжей. Погрешность эксперимента на обоих этапах также оказалась ниже желаемого предела в 5 % и составила — 1,91 % в первом случае, и 0,93 % — во втором, что дает право назвать результаты достоверными.

Сравнивая кривые I и II на рис. 5, можно сделать вывод, что электрофизическая обработка культуральной жидкости при оборачивании в металлическую пластинку (фольгу) приводит к временному увеличению скорости выделения CO_2 (при этом погрешность эксперимента составляет 1,22 %), и по истечении 20 мин. скорости выделения углекислого газа становятся практически одинаковыми.

Из этого следует, что эффект от ПЧМС имеет место и действует положительно на биоактивность микроорганизмов в культуральной среде. Изолиро-

вание колб в фольгу от внешних условий (свет, температура, давление), возможно, неблагоприятно влияет на микроорганизмы (дрожжи), но может использоваться для целенаправленного управления процессами сбраживания.

На втором этапе, исходя из данных рис. 5, результат не изменился — эффект от ПЧМС имеет место и действует положительно на рост и развитие дрожжей.

Выводы

Для оптимизации рассматриваемого метода проведена серия экспериментов по изучению факторов, влияющих на жизнедеятельность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, и возможности их использования для биоиндикации следующих процессов: влияние различных концентраций тяжелого металла; определение анионного фона (ртути азотнокислой) с механической активизацией (перемешиванием) культуральной среды и без нее; электрофизическое воздействие, как возможный инженерный метод управления ростом дрожжей.

Также установлено, что соли NaNO_3 и NaCl способствуют быстрому выделению углекислого газа при любых представленных концентрациях от 0,0148 до 14,8 мг/л у NaCl и от 0,0227 до 22,7 мг/л у NaNO_3 . Такое же действие оказывает и соль ртути HgCl_2 с концентрациями от 0,0694 до 69,4 мг/л, добавленная в колбы, где идет перемешивание культуральной среды.

Постоянная обработка воды ПЧМС, которую впоследствии используют для приготовления культуральной среды, показывает увеличение скорости выделенного CO_2 на 1,22 %. Таким образом, использование прибора «МАГ» способствует существенному эффекту, основанному на «магнитной памяти» воды.

Проведенные исследования раскрывают новые возможности определения наличия ртути в компонентах окружающей среды, являются актуальными при оценке проблем антропогенного воздействия на природу [10, 11], при поиске методов контроля за загрязнением окружающей среды [12, 13]. Исследования могут быть полезны при обеззараживании бытовых и производственных сточных вод [14, 15], мониторинге экологических индикаторов для поддержки принятия решений на различных национальных и региональных уровнях [16], озеленении городов [17—19].

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Махотлова М. Ш., Ахматова М. Х. Человек, окружающая среда и загрязнение природной среды // Молодой ученый. 2015. № 21(101). С. 59—62.
2. Новак В. А. Важнейшая экологическая проблема // Информационный бюллетень. 2014. № 5. С. 61—62.
3. Navratil T. The history of mercury pollution near the Spolana chlor-alkali plant (Neratovice, Czech Republic) as recorded by Scots pine tree rings and other bioindicators // Science of the Total Environment. 2017. Vol. 586. Pp. 1182—1192.
4. Ali N. Monitoring of environmental mercury exposure using hair as bioindicator and the study of potential factors affecting on it in karachi // American Journal of Analytical Chemistry. 2014. Vol. 2014. Pp. 10132.
5. Munteanu G. G., Munteanu V. I. Bioindication of mercury pollution of the Dubossary Reservoir // Water resources. 2005. Vol. 32. Pp. 422—426.
6. Бурдин К. С., Золотухина Е. Ю. Тяжелые металлы в водных растениях (аккумуляция и токсичность). М. : Диалог МГУ, 1998. 202 с.
7. Азовский М. Г., Гребеницкова М. В., Пастухов В. И. Уровень накопления ртути в водных растениях как показатель загрязнения водоемов // Вода: химия и экология. 2010. № 8(26). С. 20—24.

8. Новоселова Е. А., Скрипник И. Л., Савельев Д. В., Каверзнева Т. Т. Применение метода биоиндикации при определении влияния температуры на концентрацию ртути в чрезвычайных ситуациях // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. 2022. Т. 11. № 2(58). С. 164—168.
9. Иванов А. В., Скрипник И. Л., Воронин С. В. Уменьшение процесса коррозии металла при воздействии переменного частотно-модулированного сигнала // Проблемы управления рисками в техносфере. 2019. № 1. С. 14—24.
10. Савельев Д. В., Скрипник И. Л., Воронин С. В. Актуальные вопросы экологического загрязнения мегаполисов вредными веществами, влияние опасных факторов на здоровье населения // Мониторинг, моделирование и прогнозирование опасных природных явлений и чрезвычайных ситуаций. 2018. С. 224—227.
11. Ukaogo P. O., Ewuzie U., Onwuka C. V. Environmental pollution: causes, effects, and the remedies // Microorganisms for sustainable environment and health. Elsevier. 2020. Pp. 419—429.
12. Canter L. W., Knox R. C. Ground water pollution control. CRC Press. 2020. 552 p.
13. Abdeldayem R. A. A preliminary study of heavy metals pollution risk in water // Applied Water Science. 2020. Vol. 10. Iss. 1. P. 1.
14. Anbalagan S., Kumar P. S., Jeevanantham S., Karishma S. Effective water/wastewater treatment methodologies for toxic pollutants removal: Processes and applications towards sustainable development // Chemosphere. 2021. Vol. 280. Pp. 130595.
15. Suriadikusumah A., Mulyani O., Sudirja R., Sofyan E. T. Analysis of the water quality at Cipeusing river, Indonesia using the pollution index method // Acta Ecologica Sinica. 2021. Vol. 41. Iss. 3. Pp. 177—182.
16. Zou B., Li Sh., Lin Y., Wang B. Efforts in reducing air pollution exposure risk in China: State versus individuals // Environment international. 2020. Vol. 137. Pp. 105504.
17. Прокопенко В. В. Основные методики оценки зеленого каркаса крупнейшего города // Вестник Волгоградского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Строительство и архитектура. 2023. Вып. 5(93). С. 155—167.
18. Гайворонская Д. В., Захаров Я. С., Чеснокова О. Г. Вертикальное озеленение фасадов высотных зданий // Вестник Волгоградского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Строительство и архитектура. 2023. Вып. 1(90). С. 202—210.
19. Прокопенко В. В. Основные теоретические аспекты формирования системы озелененных территорий в городской среде // Вестник Волгоградского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Строительство и архитектура. 2023. Вып. 1(90). С. 224—237.

© Новоселова Е. А., Скрипник И. Л., Савельев Д. В., Каверзнева Т. Т., 2024

Поступила в редакцию
в июне 2024 г.

Ссылка для цитирования:

Новоселова Е. А., Скрипник И. Л., Савельев Д. В., Каверзнева Т. Т. Оптимизация метода экспресс-биоиндикации окружающей среды дрожжевыми грибами при загрязнении ртутью на основе механической активации и электрофизического воздействия // Вестник Волгоградского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Строительство и архитектура. 2024. Вып. 3(96). С. 157—165. DOI: 10.35211/18154360_2024_3_157.

Об авторах:

Новоселова Елена Александровна — канд. техн. наук, руководитель проекта АО НДЦ НПФ «Русская лаборатория». Российская Федерация, 197229, г. Санкт-Петербург, тер. Ольгино, ул. Вокзальная, д. 2, корп. 3; novoselova-1989@mail.ru

Скрипник Игорь Леонидович — канд. техн. наук, доц., доц. каф. пожарной безопасности технологических процессов и производств, Санкт-Петербургский университет ГПС МЧС России. Российская Федерация, 196105, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, 149; ig.skripnick2011@yandex.ru

Савельев Дмитрий Вячеславович — канд. воен. наук, доц., нач. каф. пожарной безопасности технологических процессов и производств, Санкт-Петербургский университет ГПС МЧС России. Российская Федерация, 196105, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, 149; savelev.d@igps.ru

Каверзнева Татьяна Тимофеевна — канд. техн. наук, доц., доц. Высшей школы техносферной безопасности, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого. Российская Федерация, 195251, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29; kaverztt@mail.ru

Elena A. Novoselova^a, Igor L. Skripnik^b, Dmitry V. Savelyev^b, Tatyana T. Kaverzneva^c

^a JSC NDC NPF "Russian Laboratory"

^b Saint Petersburg University of the State Fire Service of the EMERCOM of Russia

^c Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University

OPTIMIZATION OF THE METHOD FOR EXPRESS BIOINDICATION OF THE ENVIRONMENT BY YEAST FUNGI IN MERCURY CONTAMINATION BASED ON MECHANICAL ACTIVATION AND ELECTROPHYSICAL INFLUENCE

The main results of determining the presence of mercury in environmental components using the method of express bioindication using yeast fungi are presented. It has been established that mercury salts contribute to the rapid release of carbon dioxide at any concentrations presented in the article if the culture medium is mixed. The dependence of the increase in the rate of carbon dioxide release by yeast fungi during constant treatment of water with an alternating frequency-modulated signal has been revealed.

Key words: mercury, carbon dioxide, sodium, nutrient medium, electrophysical impact.

For citation:

Novoselova E. A., Skripnik I. L., Savelyev D. V., Kaverzneva T. T. [Optimization of the method for express bioindication of the environment by yeast fungi in mercury contamination based on mechanical activation and electrophysical influence]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo arhitekturno-stroitel'nogo universiteta. Seriya: Stroitel'stvo i arhitektura* [Bulletin of Volgograd State University of Architecture and Civil Engineering. Series: Civil Engineering and Architecture], 2024, iss. 3, pp. 157—165. DOI: 10.35211/18154360_2024_3_157.

About authors:

Elena A. Novoselova — Candidate of Engineering Sciences, Project Manager, JSC NDC NPF "Russian Laboratory". 2, bldg. 3, ter. Olgino, st. Vokzalnaya, Saint Petersburg, Russian Federation; novoselova-1989@mail.ru

Igor L. Skripnik — Candidate of Engineering Sciences, Docent, Saint Petersburg University of the State Fire Service of the EMERCOM of Russia. 149, Moskovsky Ave., Saint Petersburg, 196105, Russian Federation; ig.skripnick2011@yandex.ru

Dmitry V. Savelyev — Candidate of Military Sciences, Docent, Saint Petersburg University of the State Fire Service of the EMERCOM of Russia. 149, Moskovsky Ave., Saint Petersburg, 196105, Russian Federation; savelev.d@igps.ru

Tatyana T. Kaverzneva — Candidate of Engineering Sciences, Docent, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University. 29, Politekhnikeskaya st., 195251, Russian Federation; kaverztt@mail.ru