

МЕТОД КВЧ ДИЭЛЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ВОДОЕМОВ ПОВЕРХНОСТНО АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Т. Ю. Щеголева, Т. В. Паршикова*, П. С. Красов, Н. В. Брюзгинова,
Б. Р. Масюк, Е. А. Ружельник

*Институт радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова НАН Украины,
12, ул. Ак. Проскуры, Харьков, 61085, Украина*
**Киевский национальный университет им. Т. Г. Шевченко
64, ул. Владимирская, Киев, 01033, Украина*
E-mail: ire@ire.kharkov.ua

Методом КВЧ диэлектromетрии получены данные, характеризующие параметры гидратного окружения культур микроводорослей. Полученные результаты позволяют анализировать молекулярные механизмы реакции нативных клеточных суспензий водорослей на действие поверхностно-активных веществ (ПАВ) в концентрациях, не превышающих предельно допустимые концентрации (ПДК). Ил. 6. Табл. 1. Библиогр.: 12 назв.

Ключевые слова: метод КВЧ диэлектromетрии, поверхностно активные вещества, микроводоросли, экосистемы.

Водоросли являются ключевым компонентом водных экосистем. Они продуцируют органические вещества, кислород и утилизируют углекислый газ. Загрязнение водоемов токсическими веществами техногенного происхождения негативно влияет на качество природных вод, и, следовательно, на растительный и животный мир водоемов, вследствие чего необратимо уменьшается видовое разнообразие водорослей. При проведении экологического мониторинга они могут быть использованы в качестве индикаторов экологической опасности для водных экосистем и человека.

Целью настоящей работы является применение метода КВЧ диэлектromетрии для изучения гидратных характеристик различных видов микроводорослей и оценки их функциональной активности.

Изучение показателей водного режима клеток водорослей на основе КВЧ диэлектromетрии представляет собой новое перспективное направление для исследования реакции этих объектов на различные токсиканты, в том числе ПАВ.

1. Материалы и методы. Разработанный в Институте радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова НАН Украины метод КВЧ диэлектromетрии позволяет исследовать диэлектрические свойства широкого класса биологических объектов. Его применение дает возможность изучать водный режим клеток под действием биологически активных агентов в условиях, исключающих разрушение исследуемого объекта. В диэлектromетре А-17, разработанном Проблемной научно-исследовательской лабораторией молекулярных механизмов [1], применен метод нахождения ε' и ε'' исследуемого образца по измерению параметров стоячей волны в волноводе прямоугольного сечения, в одномодовом режиме с использованием измерительной линии с подвижным зондом. Образец

полностью заполняет сечение волновода ($5,2 \times 2,6$ мм) и размещен на расстоянии четверти длины волны от короткозамыкающего поршня. Это дает возможность решить обратную задачу дифракции плоской электромагнитной волны на слоистом диэлектрике [2].

Блок-схема измерительной установки представлена на рис. 1.

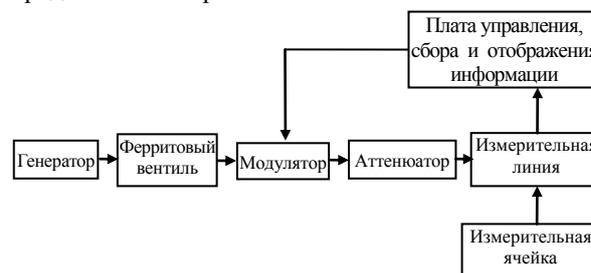


Рис. 1. Блок-схема измерительной установки

Измерения диэлектрической проницаемости биологических объектов проводятся в области дисперсии свободной воды на частоте 39,49 ГГц. Для обеспечения стабилизации частоты и падающей мощности в качестве генератора используется стабилизированный резонатором диод Ганна и применены развязывающий ферритовый вентиль и аттенуатор. Уровень мощности не превышает нескольких милливатт, что исключает нагрев образцов в процессе измерения.

Измерительная кювета имеет объем, не превышающий 0,01 мл, а разные ее конфигурации позволяют проводить эксперименты с жидкостями, суспензиями, взвесями кристаллов [3]. Точность измерений по действительной и мнимой компонентам диэлектрической проницаемости не превышает 3%, а их изменений – 1%.

С использованием среды для математических расчетов Mathcad написана программа для вычисления реальной и мнимой частей диэлектрической проницаемости исследуемых образцов.

Входными данными являются таблицы смещения минимума стоячей волны при внесении образца и ширины двойного минимума стоячей волны, полученные на приборе и представленные в форме текстового файла. По ним находится коэффициент отражения от слоистого диэлектрика, а затем диэлектрическая проницаемость. Программа позволяет рассчитывать значения реальной и мнимой частей диэлектрической проницаемости, а также их отличий относительного задаваемого контрольного значения и выводить результаты, как в графической так и в текстовой форме. Необходимая калибровка параметров расчета проводится в программе по данным измерения контрольных веществ.

В качестве объектов исследования были взяты микроводоросли прокариоты (*Microcystis aeruginosa* Kuetz. Emend. Elenk.) и эукариоты (*Chlamidomonas reinhardtii*, *Dunaliella salina* Teod., HPDP - 11, *Dunaliella salina* Teod., HPDP - 12), предоставленные кафедрой физиологии растений Киевского национального университета им. Т. Г. Шевченко. Культуры водорослей выращивались на питательных селективных средах при температуре 18-22°C и освещенности 6,6–7,4 Вт/м² (продолжительность чередования света и темноты 12/12 ч.). Для *Microcystis aeruginosa* использовали среду Фицджеральда №11 в модификации Цендера и Горема, для *Dunaliella salina* – среду Масюк. Культуры были взяты в логарифмической и стационарной фазах роста.

В опытах использовано катионоактивное ПАВ (КПАВ) – катамин (алкилдиметилбензиламоний хлорид) производства SIGMA (США).

Суспензию клеток в количестве 3 мл разливали в пробирки. Добавки КПАВ осуществляли микродозатором согласно выбранным ранее концентрациям непосредственно перед измерениями. Статистическую обработку полученных результатов проводили путем определения среднеквадратичного отклонения, которое не превышало $\delta \leq 0,012$.

2. Результаты и обсуждение. В комплексе проведенных работ было исследовано влияние загрязнителя на различные клетки микроводорослей в широком интервале концентраций. Реакция клеток зависела от фазы роста культуры, времени действия КПАВ и освещенности (находились в темноте или на свету) [4-8].

В таблице приведены реакции различных видов водорослей на свету и в темноте под действием КПАВ в концентрациях, соответствующих максимальному значению ПДК и превышающие его в 20 раз, представлены также показатели биологической активности водорослей: концентрация хлорофилла *a*, (мкг/л), *C*₁ – концентрация КПАВ и потенциальная фотосинтетическая активность ΔF [9]. Исследованные концентрации загрязнителя не только задерживали рост, но и полностью прекращали фотосинтетическую активность клеток.

Характеристика культур водорослей и изменения диэлектрических параметров суспензии клеток при действии на них КПАВ

Название	C, мкг/л	ΔF	C ₁ , мг/л	На свету		В темноте	
				$\Delta \epsilon \pm 0,2$	$\Delta \epsilon'' \pm 0,3$	$\Delta \epsilon \pm 0,2$	$\Delta \epsilon'' \pm 0,3$
<i>M. aeruginosa</i> (Лор) (Стац.)	195,9 ± 6,9	0,13 ± 0,01	0,5	-1,0	2,2	0,4	-0,6
	245,8 ± 8,6	0,31 ± 0,03	10	0,1	-0,4	-0,5	0,45
			0,5	0,9	0	-0,4	-0,6
			10	0,45	-0,9	0,4	-0,2
<i>Ankistrodesmus</i> (Лор)	232,7 ± 9,2	0,45 ± 0,03	0,5	-0	0,1	0,1	1,4
			10	-0,5	0,3	-0,2	-0,6
<i>C. vulgaris</i> (Лор)	245,6 ± 9,7	0,18 ± 0,01	0,5	0,1	1,4	-0,2	-0,3
			10	0,2	-1,4	-0,3	0
<i>Scenedsmus</i> (Лор)	575,6 ± 18,7	0,23 ± 0,02	0,5	0	0	0,1	1,35
			10	0,4	-1,0	-0,15	-0,6
<i>Spirulina platensis</i> (Лор)	680,9 ± 19,7	0,32 ± 0,03	0,5	0,15	0,3	0,2	0,2
			10	0,9	0	0,2	0,2
<i>D. salina</i> (Стац) N11	3,13 ± 0,12	0,51 ± 0,04	0,5	0	-0,6	-0,4	0,4
			10	-0,2	-0,3	-0,4	0,3
			0,5	0,5	-0,8	-0,6	-1,2
			10	1,3	2	0,3	-3

Обнаружено [10], что под влиянием КПАВ существенно изменяется площадь поверхности клеток водорослей. Увеличение объема является следствием набухания клеток, которое происходит тем интенсивнее, чем выше дейст-

вующая концентрация КПАВ (рис. 2). При концентрации КПАВ в пределах ПДК (0,012 - 0,5 мг/л) объем клеток увеличился в 2-3 раза; 3 мг/л КПАВ – в 3-20 раз; 5 мг/л – в 17-30 раз.

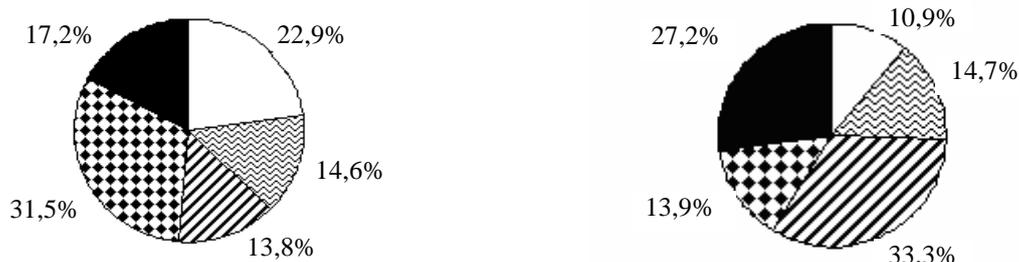


Рис. 2. Влияние КПАВ на изменение площади поверхности клеток *Chlamydomonas reinhardtii* – время действия 3 ч (а) и 1 сут (б): □ – контроль; ▨ – 0,1 мг/л; ▩ – 1 мг/л; ▧ – 3 мг/л; ■ – 5 мг/л

На рис. 3 приведены диэлектрические характеристики клеток *Microcystis aeruginosa* в логарифмической фазе роста через 3 ч контакта с КПАВ в диапазоне концентраций от 0,1 до 10 мг/мл. Видно, что чувствительность клеток суспензии микроводорослей существенно снижается при увеличении концентрации загрязнителя. Это может свидетельствовать о том, что эти концентрации вызывают нарушение процессов жизнедеятельности водорослей.

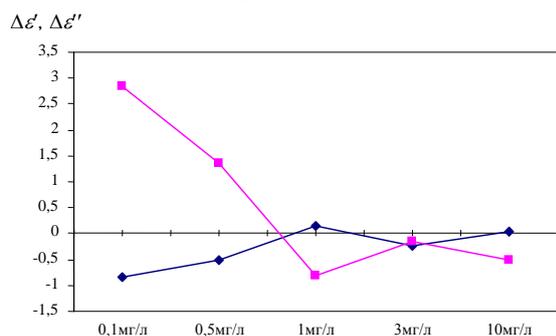


Рис. 3. Изменения гидратного окружения клеточных структур ($\Delta\epsilon'$) и количества свободной воды ($\Delta\epsilon''$) в культуре *Microcystis aeruginosa* в логарифмической фазе роста через 3 ч контакта с ПАВ на свету: ■ – $\Delta\epsilon'$; ◆ – $\Delta\epsilon''$

Водный режим планктонных водорослей как эукариотических (*Chlamydomonas reinhardtii*), так и прокариотических (*Microcystis aeruginosa*) нарушается даже в том случае, когда концентрация КПАВ не превышает ПДК (рис. 4).

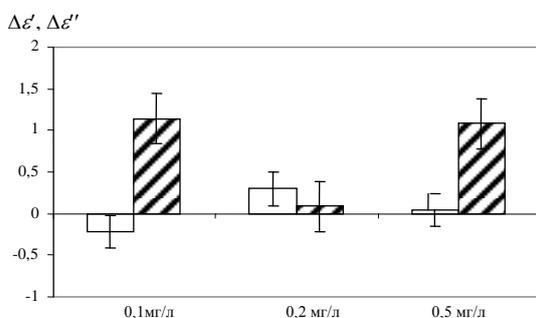


Рис. 4. Влияние различных концентраций КПАВ (не превышающих ПДК) на клетки микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii*: □ – $\Delta\epsilon'$; ▨ – $\Delta\epsilon''$

На рис. 5 и рис. 6 представлено влияние малых концентраций ПАВ на два штамма водорослей *Dunaliella salina* в стационарной фазе роста. Видно, что для этого вида водорослей концентрационная зависимость отличается у обоих штаммов. Для одного штамма имеется существенная особенность в реакции клеток на концентрацию КПАВ 0,03 мг/л, а для другого на концентрации 0,01 мг/л. Таким образом, отличия регистрируются как между видами, так и между штаммами.

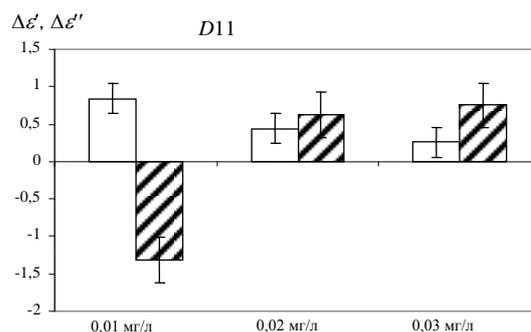


Рис. 5. Влияние различных концентраций КПАВ (не превышающих ПДК) на клетки штамма *Dunaliella salina* Teod., HPDP – 11: □ – $\Delta\epsilon'$; ▨ – $\Delta\epsilon''$

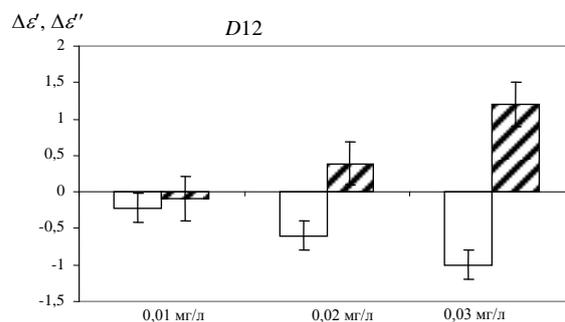


Рис. 6. Влияние различных концентраций КПАВ (не превышающих ПДК) на клетки двух штаммов *Dunaliella salina* Teod., HPD – 12: □ – $\Delta\epsilon'$; ▨ – $\Delta\epsilon''$

Представленные данные указывают на то, что изученные микроводоросли являются высокочувствительными датчиками загрязнения водо-

емов, которые позволяют выявлять концентрации ПАВ в 10 - 50 раз ниже ПДК.

Выводы. Предложенный метод позволяет проводить анализ состояния растущих структур в водных системах, а также дифференцирование различных штаммов одного и того же вида водорослей.

Имеется возможность осуществлять экспресс-оценки водных экосистем в мониторинге влияния токсикантов на разные виды водорослей. Используя этот метод можно выявлять минимальные дозы загрязнителей для каждого вида водорослей в отдельности, что необходимо для сохранения биоразнообразия водоёмов.

Высокая чувствительность КВЧ диэлектromетрии позволяет определять влияние малых концентраций КПАВ на структуры водорослей, и в перспективе контролировать качество питьевой воды.

Этот подход можно использовать для тестирования состояния культур микроводорослей при промышленном культивировании.

1. Декларацийний патент на корисну модель №9844 Пристрій для дослідження водного компонента біологічних об'єктів / Щеголева Т. Ю. № u2005 03315 від 11.04.2005.
2. Щеголева Т. Ю., Рудь Л. А. Выбор оптимальных условий измерений диэлектрической проницаемости биополимеров волноводным методом // Биофизика. - 1984. - №5. - С.903.
3. Щеголева Т. Ю. Измерение электрических параметров тонких пленок образцов полидисперсных, жидких и твердых диэлектриков с большим поглощением в микроволновом диапазоне // Радиотехника и электроника. - 1981. - №26. - С.2328-2333.
4. Паршикова Т. В., Власенко В. В., Щеголева Т. Ю., Мусієнко М. М. Апробація експрес-методів неруйнівного контролю функціонування водоростей, як біоіндикаторів при забрудненні середовища // Доп. НАНУ. - 2004 - 11. - С.172-178.
5. Паршикова Т. В., Сиренко Л. А., Щеголева Т. Ю., Колесников В. Г. Экспресс-контроль роста и физиологического состояния микроводорослей // Альгология. - 2001. - 11, №3. - С.403-413.
6. Parshikova T. V., Sirenko L. A., Shchegoleva T. Yu., Kolesnikov V. G. Express control of growth and physiological state of microalgae // International Journal on Algae. - 2002. - 4, №1. - P.106-117.
7. Паршикова Т. В. Поверхнево-активні речовини як фактор регуляції розвитку водоростей. - Київ: Фітосоціоцентр, 2004. - 276 с.
8. Паршикова Т. В., Веселовский В. А., Веселова Т. А., Дмитриева А. Г. Влияние ПАВ на функционирование фотосин-

тетического аппарата хлореллы // Альгология. - 1994. - 4, №1. - С.38-46.

9. Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. - Київ: Фітосоціоцентр, 2001. - 200 с.
10. Паршикова Т. В. Влияние поверхностно-активных веществ на рост, размножение и функциональную активность водорослей. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - М., 1990. - 21 с.
11. Щеголева Т. Ю. Исследование диэлектрических характеристик биообъектов в миллиметровом диапазоне радиоволн. - Киев: Наук. думка, 1996. - 187 с.
12. Shchegoleva T. Yu., Parshikova T. V. Use of Dielectrometry in the Free Water Dispersion Region for the Express-Control of Combined Factors in Contaminating Water Bodies // Telecommunications and Radio Engineering. - 2006. - 13, №65. - P.1245-1256.

EHF DIELECTROMETRY METHOD FOR CONTROLING OF POND POLLUTION WITH SURFACE-ACTIVE MATERIALS

T. Yu. Shchegoleva, T. V. Parshikova, P. S. Krasov, N. V. Bryuzginova, B. R. Masyuk, E. A. Ruzhelnik

By using EHF dielectrometry method data, which characterize parameters of hydrated encirclements of the microalgae culture were taken. These results allow us to analyze the molecular mechanisms of reaction of native cellular algae suspension. Surface-active materials (KSAM) in concentration which not exceed maximum permissible concentration (MPC) were taken as an acting substance.

Key words: EHF dielectrometry method, surface-active material microalgae, ecosystem.

МЕТОД КВЧ ДІЕЛЕКТРОМЕТРІЇ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЗАБРУДНЕНЬ ВОДОСХОВИЩ ПОВЕРХНЕВО АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ

Т. Ю. Щеголева, Т. В. Паршикова, П. С. Красов, Н. В. Брюзгінова, Б. Р. Масюк, К. А. Ружельник

Методом КВЧ діелектromетрії отримано дані, що характеризують параметри гідратного оточення культур микроводорослей. Отримані результати дозволяють аналізувати молекулярні механізми реакції нативних суспензій клітин водоростей на дію поверхнево-активних речовин (ПАР) у концентраціях, що не перевищують гранично допустимі концентрації (ГДК).

Ключові слова: метод КВЧ діелектromетрії, поверхнево активні речовини, микроводорості, екосистеми.

Рукопись поступила 20 февраля 2007 г.

