

БІОТЕСТУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПИТНОЇ ВОДИ

Е.О. Аристархова

Інститут агроекології і природокористування НААН

Проаналізовано проблему оцінки токсичності питної води у системі водопостачання м. Житомира. Обґрунтовано доцільність проведення біомоніторингових досліджень якості води. Доведено, що для виявлення токсичної дії компонентів води слід застосовувати набори тест-об'єктів, що складаються з представників різних рівнів біологічної організації, зокрема рослинних і тваринних форм. Обґрунтовано переваги такого біотестування порівняно з поодинокими біотестами. Запропоновано для проведення тестування якості питної води використовувати *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg та *Allium* *sepa* L. На основі реакцій кожного з тест-організмів розраховано індекси токсичності питної води. Відзначено шкідливий вплив вторинного забруднення води на живі організми. Виявлено специфічність чутливості цибулі та церіодафнії до хронічного ефекту компонентів питної води.

Ключові слова: якість питної води, токсичність, біотестування, *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, *Allium sepa* L., індекс токсичності, хронічний ефект.

Нині питання забезпечення населення якісною питною водою вважається пріоритетним не тільки в Україні, але й у більшості країн світу. Проблема полягає у тому, що незважаючи на стійку тенденцію до погіршення якості води, призначеної для питних цілей, вчені основну увагу продовжують приділяти лише дослідженню стану водних басейнів та запобіганню забрудненню водойм. Тому питання якості питної води залишається без належного розгляду [1]. Так, досі у нашій країні для знезараження і знебарвлення води під час її підготовки використовуються хлор та хлорвмісні сполуки, після потраплення яких у воду синтезуються мутагени та канцерогени. До них додаються залишкові кількості коагулянтів і флокулянтів. Доволі небезпечний вплив на склад води мають також водопровідні мережі, проходячи якими до споживачів, питна вода ще більше забруднюється [1, 2]. Наведені факти свідчать про доцільність удосконалення системи моніторингових досліджень якості питної води. Для цього доречно, поряд із існуючими методами екологічного моніторингу (головним чином фізико-хімічний аналіз води) [1, 2], застосовувати інноваційні, що здатні забезпечу-

вати додаткову інформацію про безпечність питної води для живих організмів, у т.ч. людини. Серед таких методів найдієвішим вважається біотестування. Про переваги і недоліки цього методу йдеться у численних наукових працях [2–4, 8–10]. Проте найчастіше для біотестування якості води використовуються поодинокі тести, що не дає повного уявлення стосовно можливого її забруднення, оскільки організми різних рівнів організації можуть мати неоднакову, а іноді навіть протилежну реакцію на одні і ті самі умови середовища. Біотестування включено до ДСанПіНу 2.2.4-171-10 як метод, за даними якого розраховується інтегральний показник якості питної води – індекс токсичності, і який так само пропонується визначати за реакціями деяких тест-організмів (дафній, інфузорій тощо) [3].

Перші тест-набори були створені для біотестування якості стічних та забруднених природних вод. До їх складу увійшли тваринні і рослинні організми, серед яких найчастіше використовували дрібних ракоподібних, зокрема дафнію магну (*Daphnia magna* S.) та церіодафнію афінис (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, а також вищі наземні рослини – цибулю звичайну *Allium sepa* L.) і салат посівний (*Lactuca sativa* L.) [2–5]. Розробка ДСанПіНу 2.2.4-171-10

сприяла залученню цих тест-об'єктів до оцінки токсичності питної води. Однак чутливість організмів до впливу води з вищими показниками якості особливо за необхідності визначення її гострої дії, виявилась недостатньо високою [2]. Тому для підвищення ефективності біотестування токсичності питної води, що проводиться на уніфікованих тест-об'єктах, слід спрямувати не стільки на визначення її гострої токсичності, а звернути увагу на її хронічну токсичність та рівень інформативності реакцій цих організмів. З великої кількості уніфікованих біооб'єктів нами були обрані для створення тест-набору церіодафнії і цибуля, реакції яких на хронічну дію питної води виявились доволі чутливими та інформативними для того, щоб підвищити ефективність традиційного біотестування.

Мета досліджень полягає в обґрунтуванні можливості оцінювання за допомогою біотестування на церіодафніях і цибулі хронічного ефекту дії питної води.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Оцінку токсичності питної води, що пройшла очистку на КП «Житомирводоканал», проводили за методиками біологічного тестування на церіодафніях та цибулі [2–4, 7]. Для цього було сформовано три групи організмів-аналогів ($n = 20$), кожна з яких протестували на дію води. Церіодафнії були аналогами за віком (24 год), цибуля — за розміром і масою цибулин.

Проби води, відбирали у вересні 2014 р. в обсязі 1 дм³ на групу за загальноприйнятими методиками [3, 7], тестували у хімічних ємностях (0,5 дм³), у яких підтримували відповідну якість води щоденною її заміною.

Дослідження проводили за такою схемою:

- *Контрольна група* — проби дехлорованої (24 год) водопровідної води.
- *Дослідна група Д1*: проби води — з резервуара чистої води (РЧВ) 5000 м³ (двоступенева очистка).
- *Дослідна група Д2*: проби води — з РЧВ 20000 м³ (одноступенева очистка).

Біотестування — за кількістю активних та іммобілізованих (нерухомих, у т.ч. загиблих) церіодафній на першу, восьму та 15 добу, а також за кількістю цибулин з відрослими (не менше 5 мм) листками на восьму та 15 добу.

Тест-об'єкти: церіодафнія афініс (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg) та цибуля звичайна (*Allium cepa* L.).

Індекс токсичності питної води розраховували за результатами біотестування за формулою:

$$T = (I_k - I_0) 100 / I_k,$$

де: T — індекс токсичності, %; I_k — величина тест-реакції церіодафній та цибулі на контролі; I_0 — величина тест-реакції церіодафній та цибулі у досліді.

Індекс токсичності питної води не повинен перевищувати 50% незалежно від тест-об'єктів, що використовуються [3–5].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Застосування наборів тест-об'єктів для виявлення токсичності питної води дає змогу отримати більш повну інформацію щодо рівня її небезпеки для живих організмів. Зокрема, реакція тварин і рослин під час визначення загальної токсичності води може бути неоднозначною і залежати від того, як забруднювальні речовини поводять себе, контактуючи з внутрішнім середовищем організму (кумуляються, швидко виводяться тощо), тобто особливостей токсикометрії цих речовин. Так наприклад, біогени, які сприяють інтенсивному росту рослинних форм, можуть згубно впливати у тих самих концентраціях на тваринні форми [2, 4]. Тому під час добору тест-об'єктів для створення композицій, за допомогою яких планується проводити біотестування, необхідно чітко визначити реакції або функції рослин і тварин, які специфічно вказують на дію небезпечних компонентів, що входять до складу води. Доцільно також з'ясувати, у які терміни найкраще використовувати обрані тест-об'єкти і, відповідно, які види токсичності за їх участю можуть бути визначені — гостра чи хронічна.

Для виявлення хронічної токсичності питної води за стандартних умов оптимальним вважається її тестування на церіодафніях за тест-реакцією загибелі особин на сьому добу (± 1 доба). Хоча для дафній розроблено аналогічні нормативи, вони дещо поступаються церіодафніям у чутливості до загальної токсичності води [3–5, 7]. За міжнародним стандартом тест-реакція у нижчих ракоподібних визначається як іммобілізація, за якої враховується кількість нерухомих, у т.ч. загиблих особин [5], тобто втрата рухової активності розглядається як перехідний стан до загибелі особин.

Виявлення хронічної токсичності на уніфікованих рослинних тест-об'єктах є проблематичнішим порівняно з тваринними, оскільки стандартні умови біотестування за інгібуванням росту корінців для *A. cerea* передбачають три доби, а для *L. sativa* – п'ять діб. Отже, вказану тест-реакцію рослин використовують лише для визначення гострої токсичності води. Втім ДСанПіНом 2.2.4-171-10 допускається, що тестування якості питної води може

бути здійснено також за іншими тест-реакціями уніфікованих організмів [2, 3, 7]. Тому для виявлення хронічного ефекту дії питної води була застосована тест-реакція листоутворення у цибулі. У поєднанні з реакцією іммобілізації церіодафній вона виявилась доволі інформативною і надала змогу підвищити ефективність біотестування та зменшити витрати часу на його проведення.

Результати біотестування токсичності питної води з РЧВ КП «Житомирводоканал» на церіодафніях наведено у табл. 1.

Дані таблиці свідчать про відсутність гострої токсичності на першу добу та існування чітко вираженої хронічної токсичності питної води за тест-реакцією іммобілізації церіодафній на восьму добу у групі Д1 і на 15-ту – в обох дослідних групах. Найменшу кількість нерухомих особин виявлено на контролі, а найбільшу – у групі Д1 (вода з РЧВ 5000).

У дослідних групах кількість церіодафній, які дали потомство, була однаковою (30%) і майже вдвічі меншою порівняно з

Таблиця 1

Біотестування токсичності питної води з визначенням іммобілізації *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (n = 20)

Доба дослід/індекс токсичності води (Т)	Кількість активних церіодафній:					
	контрольна група (К)		дослідні групи			
			Д1		Д2	
	особин	%	особин	%	особин	%
1	20	100	20	100	20	100
T ₁	–		–		–	
8	20	100	10	50	11	55
T ₈	–		50,00		45,00	
15	19	95	8	42,11	9	47,37
T ₁₅	–		57,90		52,63	
Кількість церіодафній:						
– які дали потомство	14	70	6	30	6	30
– іммобілізованих,	1	5	12	60	10	50
– у т.ч. загиблих	–	–	4	20	4	20

контролем. За кількістю загиблих особин дослідні групи так само не відрізнялись (20%). Проте значення індексів токсичності свідчать про те, що у групі Д2 питна вода була більш якісною, ніж у групі Д1. Так, на восьму добу тестування індекс токсичності води у групі Д2 не перевищував нормативного рівня, тоді як у групі Д1 – досягав 50%.

Подібна ситуація спостерігалась на восьму добу досліджень і щодо визначення хронічної токсичності питної води за тест-реакцією листоутворення у цибулі і відрізнялася (табл. 2) лише більшою чутливістю рослинного організму порівняно з тваринним.

Кількість цибулин з листками у групі Д1 поступалась відповідному показнику на контролі (вдвічі) та у групі Д2 (на 10%). Відповідно, індекс токсичності питної води у групі Д1 досягав 55%, а у групі Д2 був на 9,1% нижчим.

Крім інгібування листоутворення, негативний вплив води на цибулю полягав також у рості асиметричних листків з нерівномірним забарвленням, закручених тощо. Цибулин з порушенням розвитку

листіків у дослідній групі Д1 виявилось доволі багато – 25%, у групі Д2 їх було на 10% менше. У 15% цибулин на 15-ту добу досліджень процес листоутворення так і не розпочався.

Застосування тест-реакції листоутворення у цибулі впродовж восьми діб для визначення хронічної токсичності питної води надало змогу значно спростити техніку та розширити можливості біотестування порівняно із стандартизованою тест-реакцією коренеутворення, визначення якої триває п'ять діб і за якою можливо виявити лише гостру токсичність води. Прийнята за тест-реакцію ознака відносної кількості цибулин з новоутвореними листками є придатнішою для розрахунку індексу хронічної токсичності води в умовах водоканалів та очисних станцій, ніж значно триваліше за технікою виконання традиційне вимірювання довжини кореневого пучка. А відрослі за період досліджень корінці цибулі доцільно використовувати у подальших дослідженнях для визначення генотоксичності питної води.

Певна різниця у токсичності води між дослідними групами пояснюється вико-

Таблиця 2

Біотестування токсичності питної води з визначенням листоутворення у *Allium cepa* L. (n = 20)

Доба дослід/індекс токсичності води (Т)	Кількість цибулин з листками:					
	контрольна група (К)		дослідні групи			
			Д1		Д2	
од.	%	од.	%	од.	%	
1	–	–	–	–	–	–
T ₁	–		–		–	
8	18	100	8	44,44	9	50
T ₈	–		55,00		50,00	
15	20	100	12	60	14	70
T ₁₅	–		40,00		30,00	
У т.ч. цибулин:	–	–				
– з порушенням розвитку листків			5	25	3	15
– без листків			2	10	1	5

ристанням різних технологій підготовки питної води, проби якої були відібрані з РЧВ 5000 і РЧВ 20000 на КП «Житомир-водоканал», про що йшлося у раніше представлених результатах досліджень [2].

Отже, запропонований нами тест-набір, до складу якого входять рослинна і тваринна форми організмів (цибуля — *A. cepa* та церіодафнії — *C. affinis*) може бути використаний для оцінки хронічної токсичності питної води на восьму добу біотестування.

ВИСНОВКИ

Оцінювання токсичності питної води м. Житомира проведено з використанням тест-об'єктів *C. affinis* та *A. cepa*. На основі реакцій організмів (імобілізації церіодаф-

ній та листоутворення цибулі) розраховано індекси токсичності, за значеннями яких (50–55%) на восьму добу біотестування зафіксовано хронічну токсичну дію води, спричинену вторинним забрудненням (підвищеним умістом хлороформу та сполук алюмінію). За здійснення контролю якості води на першу та 15-ту добу тестування із застосуванням тест-реакції імобілізації церіодафній гострої токсичності води не виявлено, натомість підтверджено чітко виражену хронічну токсичність води (індекс токсичності 57,9% — у групі Д1 та 52,63% — у групі Д2). Обґрунтовано можливість застосування тест-набору з церіодафній та цибулі для визначення хронічного ефекту дії питної води на КП «Житомир-водоканал».

ЛІТЕРАТУРА

1. *Запольський А.К.* Охорона питних вод від виснаження і забруднення / А.К. Запольський, І.В. Шумигай // *Агроекологічний журнал*. — 2015. — № 3. — С. 6–15.
2. *Аристархова Е.О.* Особливості визначення токсичності питної води / Е.О. Аристархова // *Агроекологічний журнал*. — 2016. — № 3. — С. 50–55.
3. Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною: ДСанПіН 2.2.4-171-10. — [Чинний від 1.07.2010]. — К.: Державні санітарні норми та правила, 2010. — 50 с. — (Національний стандарт України).
4. *Скок С.В.* Оцінювання якості питної води м. Херсона методом біотестування / С.В. Скок // *Агроекологічний журнал*. — 2015. — № 2. — С. 26–30.
5. Water quality. Determination of long term toxicity of substances to *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*): ISO 10706: 2000 [Електронний ресурс]. — 26 p. — Режим доступу: <http://www.nor-madoc.com/ru/norme-97844-iso-107062000.html>
6. Zooplankton (*Cladocera*) species turnover and long-term decline of *Daphnia* in two high mountain lakes in the Austrian Alps / L. Nevalainen, M. Ketola, J.B. Korosi et al. // *Hydrobiologia*. — 2014. — Vol. 722 (1). — P. 75–91.
7. Якість води. Визначення хронічної токсичності хімічних речовин та води на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (*Cladocera, Crustacea*): ДСТУ 4174-2003 (ISO 10706:2000, MOD) [Електронний ресурс]. — [Чинний від 10.06.2003 р.]. — Режим доступу: <http://dnop.com.ua/dnaop/act26918.htm>
8. *Lampert W.* Limnoecology / W. Lampert, U. Sommer. — Oxford, New York: Oxford University Press, 2007. — 324 p.
9. *Müller R.* Bottom-up control of whitefish populations in ultra-oligotrophic Lake Brienz. / R. Müller, M. Breitenstein, M. Bia // *Aquatic Sciences Publ.* — 2007. — Vol. 69. — P. 271–288.
10. *Arkhynchuk V.V.* A novel nucleolar biomarker in plant and animal cells for assessment of substance cytotoxicity / V.V. Arkhynchuk, N.N. Garanko // *Environmental Toxicology*. — 2002. — Vol. 17, No. 3. — P. 187–194.

REFERENCES

1. Zapolskyi, A.K., Shumigay, I.V. (2015). Okhorona vod vid vysnazhennia i sabrudnennia [Protection of drinking water from depletion and pollution]. *Agroecological zhurnal — Agroecological Journal*, 3, 6–15 [in Ukrainian].
2. Arystarkhova, E.O. (2016). Osoblyvosti vysnazhennia toksyshnosti pytnoi vody [Features of the determination of drinking water toxicity]. *Agroecological zhurnal — Agroecological Journal*, 3, 50–55 [in Ukrainian].
3. Higiyenichni vymogy do vody pytnoi, prysnachenoj dlya spo vzhyvannya ludynoiu [Hygiene requirements to drinking water intended for human consumption]. (2010). *DSanPiN 2.2.4-171-10 2.2.4-171-10 from 07th January 2010*. — Kyiv: Derzhavni sanitarni normy ta pravyla [in Ukrainian].
4. Skok S.V. (2015). Otsiniuvannia yakosti pytnoi vody m. Khersona metodom biotestuvannia [Assessment of quality of drinking water. Kherson by bioassay]. *Ahroekolohichniy zhurnal — Agroecological journal*, 2, 26–30 [in Ukrainian].

5. Water quality. Determination of long term toxicity of substances to *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*). (2000). ISO 10706:2000. 26 p. *www.normadoc.com/ru/norme-97844-iso-107062000.html*. Retrieved from <http://www.normadoc.com/ru/norme-97844-iso-107062000.html> [in English].
6. Nevalainen L., Ketola M., Korosi J.B. (2014). Zooplankton (*Cladocera*) species turnover and long-term decline of *Daphnia* in two high mountain lakes in the Austrian Alps. *Hydrobiologia*, 722 (1), 75–91 [in English].
7. DSTU 4174-2003. Jakist vody Vysnashennia khronishnoi toksyshnosti khimishnykh reshovyn i vody na *Daphnia magna* Strausand ta *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (*Cladocera, Crustacea*) [Quality of water. The determination of chronic toxicity of substances and water on *Daphnia magna* Strausand and *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (*Cladocera, Crustacea*)]. (2003). DSTU 4174-2003 (ISO 10706:2000, MOD) from 10th June 2003. *dnop.com.ua/dnaop/act26918.htm*. Retrieved from <http://dnop.com.ua/dnaop/act26918.htm> [in Ukrainian].
8. Lampert, W., Sommer, U. (2007). Limnoecology. Oxford, New York, Oxford University Press [in English].
9. Müller, R., Breitenstein, M., Bia, M. (2007). Bottom-up control of whitefish populations in ultraligotrophic Lake Brienz. *Aquatic Sciences Publ.*, 69, 271–288 [in English].
10. Arkhipchuk, V.V., Garanko, N.N. (2002). A novel nucleolar biomarker in plant and animal cells for assessment of substance cytotoxicity. *Environmental Toxicology*, 17, 3, 187–194 [in English].