

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ УФ+ВУФ ОБЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ИНВАЗИЙ, ПЕРЕНОСИМЫХ БАЛЛАСТНЫМИ ВОДАМИ СУДОВ

© 2018 Фоканов В.П.^{а, *}, Гаврилова О.В.^{б, **}, Фоканов А.В.^а

^а ООО «НПО ЭНТ-ТЕХНОЛОГИЯ УФ», г. Санкт-Петербург, 199106;

^б Биологический факультет СПбГУ, г. Санкт-Петербург, 199177;

e-mail: * fokanov@mail.ru, ** avanti1958@inbox.ru

Поступила в редакцию 27.09.2018

Приведены результаты эксперимента по моделированию обезвреживания балластной воды (БВ) судов, контаминированной одноклеточной галофильной водорослью *Dunaliella terricola*, излучением с длинами волн 254 нм и 185 нм ртутной дуговой лампы низкого давления.

Эксперимент моделирует заполнение танка БВ контаминированной *Dunaliella terricola* морской водой через установку обезвреживания балластной воды, хранение в течение пяти суток в танке БВ, имитирующее плавание судна, и сброс БВ через установку в порту прибытия.

Обезвреживание контаминированной БВ выполнено по технологии современных окислительных процессов (Advanced Oxidative Processes, AOP), с участием озона и перекиси водорода, нарабатываемых в воде излучением линии 185 нм.

Экспериментально установлено, что предлагаемый метод обработки модельной балластной воды прекращает размножение тест-объекта. Выполненное исследование показывает перспективность применения УФ+ВУФ излучения для предотвращения переноса БВ чужеродных одноклеточных организмов и их инвазии в местные биоценозы.

Ключевые слова: обезвреживание балластной воды, УФ облучение, ртутные дуговые лампы низкого давления, *Dunaliella terricola*, одноклеточные вселенцы.

Введение

Слив балластных вод (БВ) судов, не обезвреженных от морских организмов, представляет экологическую угрозу внесения чужеродных видов, которые могут нарушить местные экосистемы. Основным документом, регламентирующим сброс водяного балласта, является Международная конвенция по контролю и управлению судовыми БВ и осадками, принятая Международной морской организацией в 2004 г. [Международная конвенция, 2005]. Россия присоединилась к конвенции, что предполагает обязательное применение на судах систем обезвреживания БВ.

Технология обезвреживания БВ предварительной фильтрацией и ультрафиолетовым (УФ) облучением получила широкое промышленное внедрение во всем мире. Обезвреживанию УФ излучением подлежат одноклеточ-

ные организмы, поскольку многоклеточные морские организмы задерживаются фильтрами с размером пор не более 50 мкм.

Наиболее распространёнными источниками УФ излучения для обезвреживания БВ являются ртутные дуговые лампы низкого давления (ЛНД). 98% спектра УФ излучения ЛНД сконцентрировано [Zoschke et al., 2014] в резонансных линиях 253.7 и 184.9 нм.

Как правило, для обезвреживания БВ применяется только излучение ЛНД на длине волны 253.9 нм, которое вызывает инактивацию одноклеточных организмов. При этом вакуумное ультрафиолетовое (ВУФ) излучение на длине волны 184.9 нм устраняется выбором материала колбы лампы.

В настоящей работе для обезвреживания БВ применяется ЛНД, излучающая на обеих длинах волн, далее «УФ+ВУФ» облучение, колба

которых выполняется из специальных сортов кварца (КУ-1, Suprasil).

Коэффициент поглощения излучения 185 нм дистиллированной водой составляет 1.8 см^{-1} [Weeks et al., 1963], поэтому воздействие 90% излучения 185 нм происходит вокруг ЛНД на расстоянии 5.5 мм от её поверхности. При этом излучение с длиной волны 185 нм производит вокруг ЛНД фотолиз воды – образует гидроксильные радикалы, которые эффективно индуцируют поверхностное окисление клеточной мембраны молекул [Wang et al., 2010]. Гидроксильные радикалы могут также диффундировать в клетку и активировать ферменты, повреждающие внутриклеточные компоненты и препятствующие синтезу белка [Mamane et al., 2007].

В качестве тест-объекта для эксперимента обезвреживания БВ УФ+ВУФ облучением авторы выбрали одноклеточные микроводоросли как микроорганизм, наиболее устойчивый к УФ облучению.

Ранее с этим же тест-объектом авторами был проведён сравнительный эксперимент эффективности обезвреживания БВ излучениями ртутной лампой среднего давления и ртутной ЛНД, излучающей на длине волны 254 нм [Fokanov et al., 2017].

Цель настоящей работы – определить экспериментально эффективность обезвреживания БВ от морских одноклеточных организмов ртутной ЛНД, излучающей на длинах волн 254 нм и 185 нм.

Материалы и методы

Эксперимент моделирует заполнение танка БВ контаминированной тест-объектом морской водой через установку обезвреживания балластной воды (УОБВ), хранение в течение пяти суток в танке БВ, имитирующее плавание судна, и сброс БВ через УОБВ в порту прибытия. Применяемая технология обезвреживания основана на методе современных окислительных процессов (Advanced Oxidation Processes, AOP) [Zoschke et al., 2014].

УОБВ производительностью $3 \text{ м}^3/\text{ч}$ представляет собой цилиндрический корпус диа-

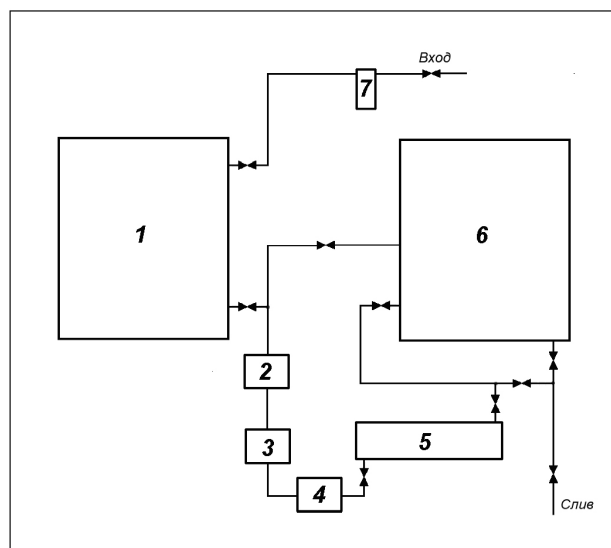


Рис. 1. Гидравлическая схема эксперимента:

1, 6 – модель танка БВ; 2 – насос; 3 – расходомер; 4 – эжектор; 5 – УОБВ; 7 – фильтр.

метром 100 мм, высотой 900 мм, в котором внутри кварцевой трубки диаметром 50 мм, пропускающей излучение волн длиной 254 нм и 185 нм, работает лампа TUV-36HO. Вход воды осуществляется через нижний патрубок. Краны отбора проб имеются на входном и выходном патрубках УОБВ.

Гидравлическая схема эксперимента представлена на рисунке 1. Испытательный стенд обеспечивает перемещение воды из модели танка (1) насосом (2) через расходомер (3), эжектор (4), УОБВ (5) в модель танка БВ (6) и обратно.

Снизу кварцевой трубки УОБВ работает вентилятор, к которому по вентиляционному каналу подаётся холодный воздух для создания оптимального температурного режима работы лампы (контроль температуры колбы термомпарой). Вентилятор также удаляет озон, нарабатываемый излучением ЛНД с длиной волны 185 нм, внутри кварцевой трубки.

Эжектор 130 1583A PУOP (4) располагается горизонтально на расстоянии 0.3 м от нижнего пробортборного крана УОБВ. В обрабатываемую воду эжектор подаёт воздух комнатной температуры в виде мелких пузырьков. Линия 185 нм в спектре бактерицидной лампы поглощается в тонком слое

воды [Weeks et al., 1963]. Наличие мелких пузырьков в воде способствует увеличению толщины облучаемого 185 нм слоя и интенсивному перемешиванию. В воде эффективно нарабатывается перекись водорода H_2O_2 , как вследствие прямого воздействия излучения линии 185 нм, так и вследствие разрушения под воздействием линии 254 нм наработанной линией 185 нм озона O_3 [Басов Л.Л. Физический факультет СПбГУ, частное сообщение, 2018].

Перепад высоты водяного столба на входе эжектора составляет 2 м, что вместе с давлением насоса (2) создаёт необходимый перепад давлений на эжекторе.

Расход воды через УОБВ, равный 3 м³/ч, устанавливается поворотом рукоятки крана на выходе из модели танка БВ по показаниям вихревого расходомера ЭМИС–ВИХРЬ 200.

Проведение эксперимента

Контаминированная тест-объектом морская вода готовится в ёмкости (1), в которой постоянно работают механические мешалки, следующим образом:

- заливается водопроводная вода, очищенная угольным фильтром (7);
- постепенно засыпается крупная морская соль (производства Израиля) в количестве, достаточном достижения солёности воды, равной 30 PSU;
- после достижения равномерной по объёму солёности (контроль рефрактометром), постепенно заливается заранее приготовленная концентрированная суспензия тест-объекта в солёной воде.

Эксперимент «Заполнение танка БВ контаминированной морской водой через УОБВ» состоит в перемещении приготовленной морской воды из ёмкости (1) (рис. 1) в модель танка БВ (6).

Хранение БВ производится в модели танка БВ (6) при постоянно работающих механических мешалках в течение пяти суток.

Эксперимент «Сброс БВ в порту прибытия через УОБВ» имитирует дебалластировку БВ через УОБВ из балластного танка судна в ок-

ружающую среду. Он состоит в сливе воды из ёмкости (6) через УОБВ (рис. 1).

Отбор трёх проб воды «На входе УОБВ» и трёх проб «На выходе УОБВ» производится в начале, середине и конце каждого эксперимента.

Описание тест-объекта

В качестве тест-объекта выбран штамм *Dunaliella terricola* CALU1006, предоставленный ресурсным центром «Культивирование микроорганизмов» научного парка СПбГУ, применённый ранее авторами [Fokanov et al., 2017]. Одноклеточная эукариотическая галофильная водоросль *Dunaliella terricola* (*Chlorophyceae*; *Chlamydomonadales*) [Масюк и др., 2007], широко используется в биоиндикации, так как соответствует всем требованиям, предъявляемым к тест-организмам [Reish, Lemay, 1988].

Накопление необходимой биомассы тест-объектов осуществлялось методом последовательного пересева стационарных культур в возрастающие объёмы среды D жидкой.

Клетки *Dunaliella terricola* CALU1006 (штамм D6), длиной 5–15 мкм, относятся к гипергалобным видам. На рисунке 2 представлена морфология тест-культуры до облучения в пробах воды «На входе УОБВ». Изображение получено на микроскопе Leica DM2500, оснащённом камерой Leica DFC500 и оптикой Номарского. У молодых клеток задний конец заужен и закруглён, зрелые вегетативные клетки (и в процессе деления) имеют каплевидную форму, обладают двумя равными по размерам жгутиками на переднем конце. Чашевидный хлоропласт с единственным пиреноидом занимает средне-заднее положение, единственное ядро в средне-переднем положении. Каплевидные клетки подвижны, у основания жгутиков отчётливо виден отмеченный стрелкой глазок, часть светорецепторного комплекса.

Количественную оценку жизнеспособности тест-объекта в пробах воды производили специалисты Лаборатории микробиологии СПбГУ прямым учётом концентрации неподвижных клеток водорослей в камере Горяева по формуле:

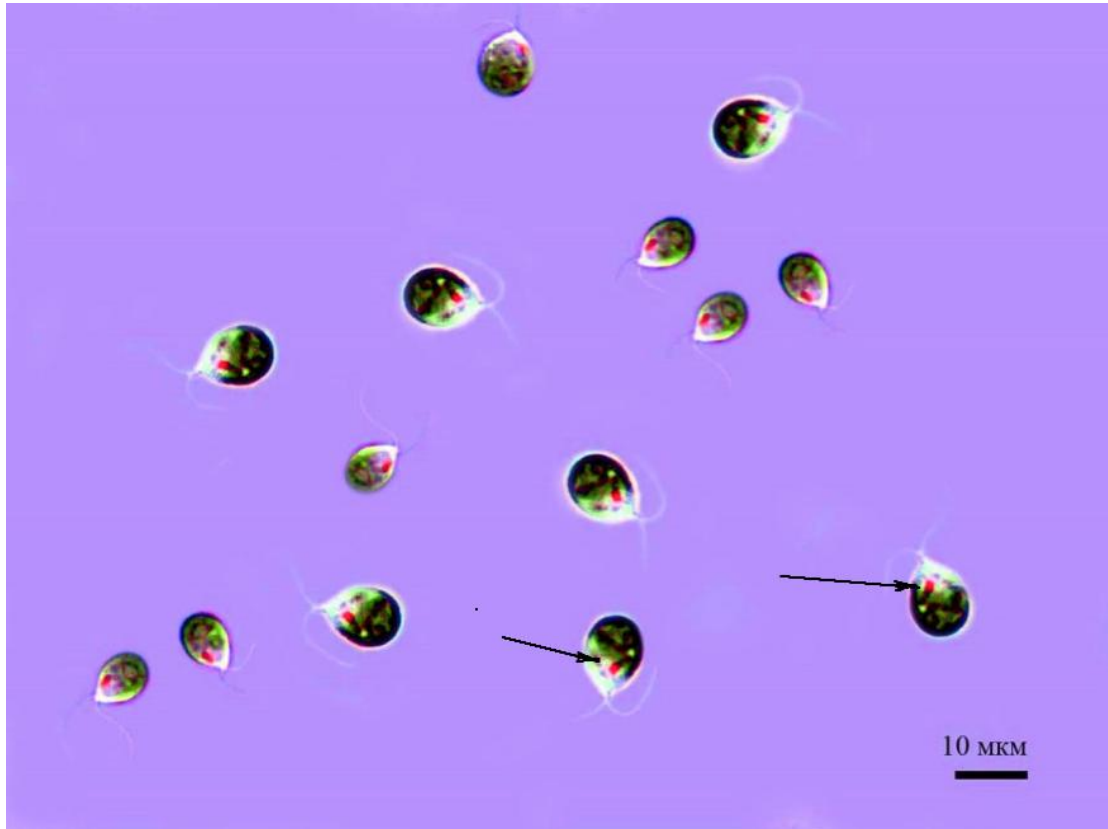


Рис. 2. *Dunaliella terricola* CALU1006 (штамм D6) в пробе «На входе УОБВ»

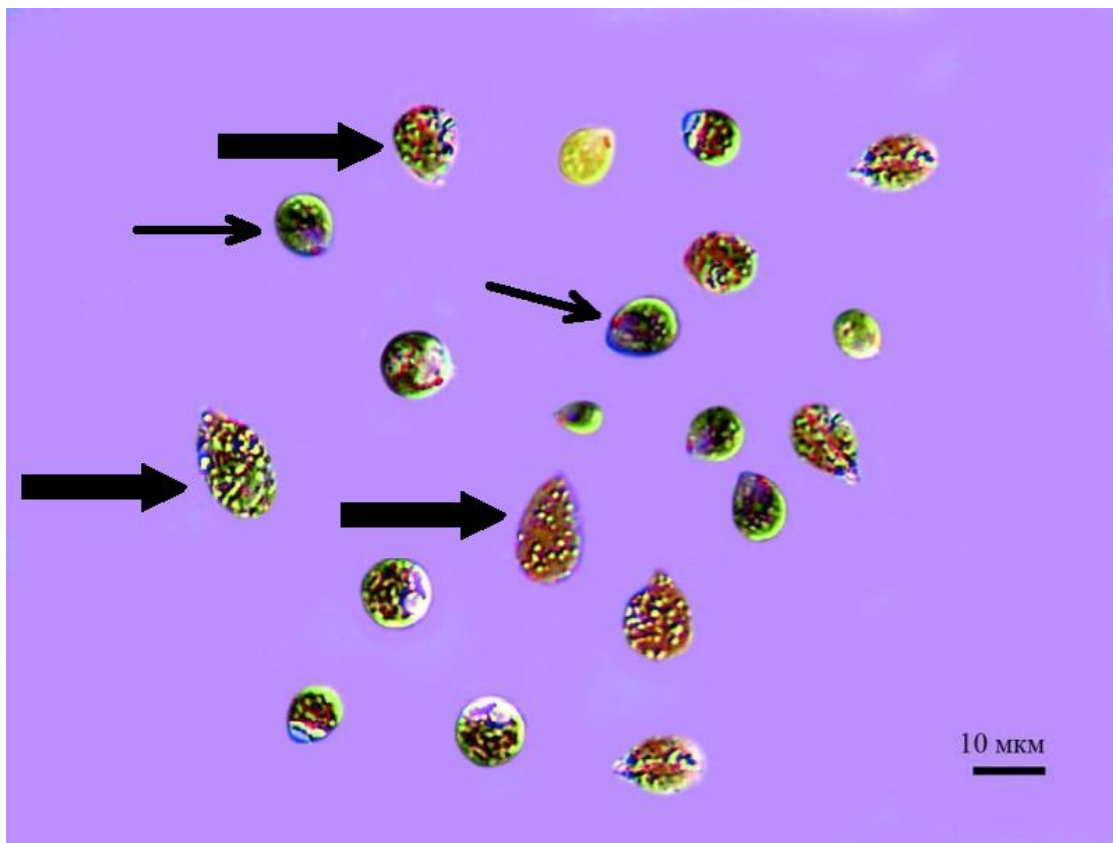


Рис. 3. *Dunaliella terricola* CALU1006 в пробе «На выходе УОБВ»

N клеток (в 100 больших квадратах) \times 2500 = N кл/мл.

По результатам наблюдений определялись:

- концентрация клеток всего в единицах кл/мл;
- концентрация подвижных клеток в единицах кл/мл;
- концентрация неподвижных клеток по отношению к общей концентрации клеток, в процентах.

Результаты и обсуждение

На рисунке 3 представлена морфология тест-культуры в пробе «На выходе УОБВ». В поле зрения имеются подвижные и неподвижные клетки. Не жизнеспособные неподвижные клетки (отмечены толстой стрелкой) без жгутиков, с разрушенным хлоропластом, гранулированы. Наблюдаются неподвижные клетки без жгутиков, но с видимой границей хлоропласта, сохранившие глазок (отмечены тонкой стрелкой), которые в благоприятных условиях ещё способны перейти к росту.

Жизнеспособность тест-объекта оценивалась в пробах воды «На входе УОБВ» и «На выходе УОБВ» непосредственно после обработки УОБВ.

Проба воды «Отдалённые последствия» оценивалась после пяти дней хранения пробы «На выходе УОБВ» в благоприятных для тест-объекта условиях. Результат проб «Отдалённые последствия» демонстрирует отдалённые последствия влияния сброса БВ, обработанных УОБВ, на экологию окружающей среды, поскольку срок пять суток для применяемого тест-объекта сопоставим с 2–3 циклами их деления [Tafreshi, Shariati, 2009]. За это время повреждённые клет-

Таблица 1. Состояние тест-объекта в пробах «лабораторный контроль» перед экспериментом 08.02.2018 г.

Концентрация клеток	«На входе УОБВ», 08.02.2018 г.
Всего, 10^3 , кл/мл	178 ± 19
Неподвижных, %	1.8

ки погибнут, а жизнеспособные выйдут из состояния стресса и начнут активно делиться.

Периодически оценивалась также жизнеспособность тест-объекта в пробах воды «лабораторный контроль», которые хранились в благоприятных для микроорганизмов условиях в лаборатории и не подвергались никаким воздействиям. В таблице 1 приведена концентрация клеток тест-объекта «лабораторного контроля» перед проведением экспериментов.

В таблицах 2, 3 приведено среднее значение концентрации неподвижных клеток в пробах при проведении эксперимента. Каждое среднее значение в таблицах 2, 3 определялось по 24–26 измерениям трёх проб, отобранных в начале, середине и конце эксперимента.

Результаты эксперимента «Заполнение танка БВ контаминированной морской водой через УОБВ» (табл. 2) показывают эффективность однократной обработки УОБВ. Доля неподвижных клеток тест-объекта в пробах «На выходе УОБВ» непосредственно после эксперимента возрастает в 2.5 раза по сравнению с пробой «На входе УОБВ», и увеличивается до 2.9 раза в пробах «Отдалённые последствия».

Результаты эксперимента «Сброс БВ в порту прибытия через УОБВ» (табл. 3) моделиру-

Таблица 2. Результаты измерения проб воды эксперимента «Заполнение танка БВ контаминированной морской водой через УОБВ»

Концентрация клеток	«На входе УОБВ», 08.02.2018	«На выходе УОБВ», 08.02.2018	«Отдалённые последствия», 14.02.2018
Всего, 10^3 , кл/мл	119 ± 4	90 ± 3	87 ± 3
Подвижных, 10^3 , кл/мл	100 ± 5	55 ± 3	47 ± 2
Неподвижных, %	16	39	46

Таблица 3. Результаты эксперимента «Сброс БВ в порту прибытия через УОБВ»

Концентрация клеток	«На входе УОБВ», 13.02.2018	«На выходе УОБВ», 13.02.2018	«Отдалённые последствия», 19.02.2018
Всего, 10^3 , кл/мл	89 ± 4	93 ± 5	20 ± 2
Подвижных, 10^3 , кл/мл	45 ± 6	20 ± 2	*
Неподвижных, %	49	78	100

* – Из-за малочисленности достоверный учёт не представляется возможным.

ют влияние сбрасываемых обработанных БВ на экологию. Доля неподвижных клеток тест-объекта в пробах «На выходе УОБВ» непосредственно после эксперимента возрастает в 1.6 раза по сравнению с пробой «На входе УОБВ», и увеличивается до 100% в пробах «Отдалённые последствия». Общее количество клеток уменьшилось примерно в 5 раз, поскольку нежизнеспособные клетки погибают, теряют форму и разрушаются.

На рисунке 4 представлены результаты экспериментов (табл. 2, 3) графически.

Результаты эксперимента показывают, что через пять дней после сброса балластных вод, обработанных УОБВ с лампой ЛНД, излучаю-

щей на длинах волн 254 нм и 185 нм, жизнеспособных клеток тест-объекта *Dunaliella terricola* CALU1006 (штамм D6) не останется.

Заключение

Использованный способ обработки балластных вод, а именно дважды проведённое облучение ЛНД, излучающей на длинах волн 254 нм и 185 нм (при заполнении и сбросе) наносит одноклеточным микроорганизмам тест-объекта повреждения, которые практически прекращают их размножение. В результате чужеродная для местных сообществ микроорганизмов популяция одноклеточных водорос-

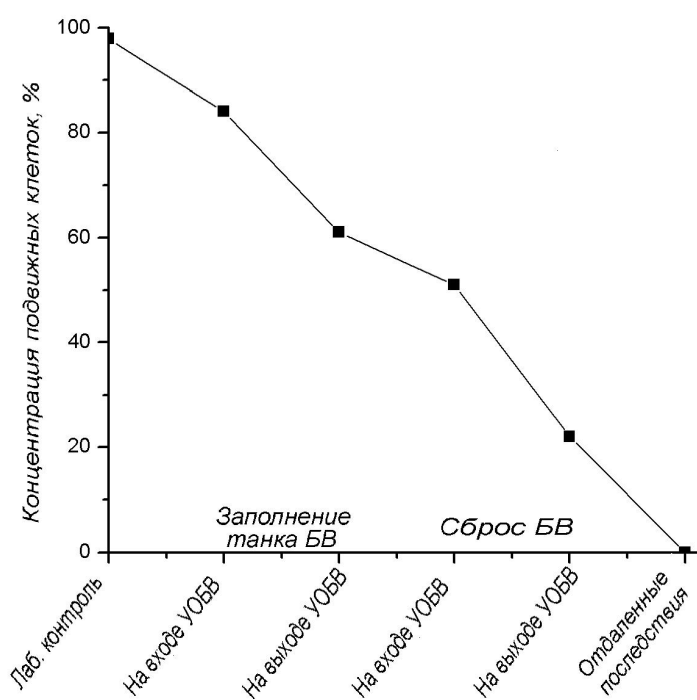


Рис. 4. Результаты экспериментов представлены графически

лей погибнет, что решает задачу предотвращения её инвазии балластными водами в аборигенные биоценозы.

Экспериментально установлено, что предлагаемый метод обработки модельной балластной воды прекращает размножение тест-объекта. Выполненное исследование показывает перспективность применения УФ+ВУФ излучения для предотвращения переноса БВ чужеродных одноклеточных организмов и их инвазии в местные биоценозы.

Литература

- Масюк Н.П., Посудин Ю.И., Лилицкая Г.Г. Фотодвижение клеток *Dunaliella* Teod. (Dunaliellales, Chlorophyceae, Viridiplantae). Киев; Пушино: Электронное изд-во «Аналитическая микроскопия», 2007. 264 с.
- Международная конвенция о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими 2004 года. СПб.: ЦНИИМФ, 2005. 120 с.
- Fokanov V.P., Gavrilova O.V., Shallar A.V. Study of effectiveness of UV irradiation of single-cellular organisms transported with ballast waters of ships // Russian Journal of Biological Invasions. 2017. Vol. 8 (4). P. 386–392.
- Mamane H., Shemer, H., Linden K.G. Inactivation of *E. coli*, *B. subtilis* spores, and MS2, T4, and T7 phage using UV/H₂O₂ advanced oxidation // J. Hazard. Mater. 2007. Vol. 146. P. 479–486.
- Reish D.J., Lemay J.A. Bioassay Manual for Dredged Materials. Technical Report. DACW-09-83R-005. US Army Corps of Engineers. Los Angeles District, 1988.
- Tafreshi H.A., Shariati M. *Dunaliella* biotechnology: methods and applications // J. Appl. Microb. 2009. Vol. 107. P. 14–35.
- Wang D., Oppenlander T., El-Din M.G. et al. Comparison of the disinfection effects of vacuum-UV (VUV) and UV light on *Bacillus subtilis* spores in aqueous suspensions at 172, 222 and 254 nm // Photochem. Photobiol. 2010. Vol. 86. P. 176–181.
- Weeks J.L., Meaburn G.M.A.C., Gordon S. Absorption Coefficients of Liquid Water and Aqueous Solutions in the Far Ultraviolet // Radiation Research. 1963. Vol. 19, No. 3. P. 559–567.
- Zoschke K., Börnick Í., Worch E. Vacuum-UV radiation at 185 nm in water treatment // Water research. 2014. Vol. 52. P. 131–145.

EFFICIENCY OF THE APPLICATION OF UV + VUV IRRADIATION FOR PREVENTION OF SINGLE-CELL INVASIONS CARRIED BY BALLAST WATERS OF SHIPS

© 2018 Fokanov V.P.^{a,*}, Gavrilova O.V.^{b,**}, Fokanov A.V.^a

^a “NPO ENT-TECHNOLOGY UV”, Saint-Petersburg, 199106;

^b Biological Faculty of St. Petersburg State University, Saint-Petersburg;

e-mail: * fokanov@mail.ru, ** avanti1958@inbox.ru

Results of an experiment on modeling of decontamination of the ballast water (BW) of vessels contaminated with a unicellular galofilny alga of *Dunaliella terricola* by irradiation with wave lengths of 254 nanometers and 185 nanometers of the mercury arc lamp of low pressure (LLP) are presented.

The experiment models the filling of BW tank by the sea water contaminated with *Dunaliella terricola* through the unit of decontamination, storage within five days in the BW tank imitating navigation of the vessel, and dumping of the BW through the unit in the port of arrival.

Decontamination of contaminated BW is executed according to technology of modern oxidizing processes (Advanced Oxidative Processes, AOP) with participation of ozone and peroxide of hydrogen, acquired in water with a radiation of line of 185 nanometers.

It is experimentally established that the suggested method of processing of model ballast water stops reproduction of a test object. The executed research shows prospects of application of UF+VUF irradiation for prevention of transfer by BW of alien single-cell organisms and their invasions into local biocenoses.

Keywords: decontamination of ballast water, UV radiation, mercury arc lamps of low pressure, phytoplankton, *Dunaliella terricola*, single-cell invaders.