

Читать  
онлайн  
Read  
online

Гусев Ю.С.<sup>1</sup>, Иванов Д.Е.<sup>1,2</sup>, Эрдниев Л.П.<sup>1</sup>, Кузянов Д.А.<sup>1</sup>, Кошелева И.С.<sup>1</sup>,  
Савина К.А.<sup>1</sup>, Микеров А.Н.<sup>1,3</sup>

## Биотестирование для объективизации гигиенической оценки поверхностных и подземных источников водоснабжения

<sup>1</sup>Саратовский медицинский научный центр гигиены ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Саратовская государственная юридическая академия», 410056, Саратов, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского», 410012, Саратов, Россия

**Введение.** Методы биотестирования наряду со стандартными методами санитарно-химического анализа могут использоваться для оценки гигиенической безопасности различных объектов окружающей среды.

**Материалы и методы.** Методы исследования включали санитарно-химический анализ проб воды, а также методы биотестирования с использованием одноклеточной зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer. и половых клеток быка *Bulla spermatozoa*.

**Результаты.** Для экспериментальной апробации разработанного алгоритма оценки гигиенической безопасности воды на основе двухкомпонентной системы биотестирования и методов санитарно-химического анализа проведена оценка шести подземных и пяти поверхностных водисточников. Реакция тест-объектов, указывающая на наличие острой токсичности проб воды, взятых из поверхностных и подземных водисточников, в большинстве случаев соотносится с превышением ПДК по отдельным показателям, выявленным с помощью санитарно-химического анализа согласно МР 2.1.4.0176–20 «Организация мониторинга обеспечения населения качественной питьевой водой из систем централизованного водоснабжения». Однако в двух пробах воды выявлено наличие токсических веществ по данным биотестирования при отсутствии превышения ПДК по данным санитарно-химического анализа, что свидетельствует о наличии в пробах воды веществ, которые отсутствуют в перечне обязательных определяемых показателей согласно МР 2.1.4.0176–20.

**Ограничения исследования.** Двухкомпонентная биотест-система не может быть использована отдельно без санитарно-химического анализа воды. **Заключение.** Биотестирование является важным дополнением к стандартному санитарно-химическому анализу согласно МР 2.1.4.0176–20, показывая наличие неидентифицированных токсических веществ, которые не включены в перечень обязательных определяемых показателей.

**Ключевые слова:** источники питьевого водоснабжения; санитарно-химический анализ; биотестирование; двухкомпонентная тест-система

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике.

**Для цитирования:** Гусев Ю.С., Иванов Д.Е., Эрдниев Л.П., Кузянов Д.А., Кошелева И.С., Савина К.А., Микеров А.Н. Биотестирование для объективизации гигиенической оценки поверхностных и подземных источников водоснабжения. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(12): 1450–1457. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1450-1457> <https://elibrary.ru/csmnmog>

**Для корреспонденции:** Гусев Юрий Сергеевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. химико-биологического мониторинга качества воды Саратовского медицинского научного центра гигиены ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, 410022, Саратов. E-mail: yuran1989@yandex.ru

**Участие авторов:** Гусев Ю.С. — концепция и дизайн исследования, написание текста, ответственность за целостность всех частей статьи; Иванов Д.Е. — концепция и дизайн исследования, написание текста; Эрдниев Л.П. — написание текста, редактирование; Кузянов Д.А. — сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста, редактирование; Кошелева И.С. — сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Савина К.А. — сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Микеров А.Н. — концепция и дизайн исследования, утверждение окончательного варианта статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 27.10.2022 / Принята к печати: 08.12.2022 / Опубликовано: 12.01.2023

Yuriy S. Gusev<sup>1</sup>, Dmitriy E. Ivanov<sup>1,2</sup>, Leonid P. Erdniev<sup>1</sup>, Dmitriy A. Kuzyanov<sup>1</sup>, Irina S. Kosheleva<sup>1</sup>,  
Kseniya A. Savina<sup>1</sup>, Anatolij N. Mikerov<sup>1,3</sup>

## Biotesting for the objectivization of the hygienic evaluation of the surface and underground drinking water sources

<sup>1</sup>Saratov Hygiene Medical Research Center of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Saratov, 410022, Russian Federation;

<sup>2</sup>Saratov State Law Academy, Saratov, 410056, Russian Federation;

<sup>3</sup>Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation

**Introduction.** An algorithm for evaluating the hygienic safety of drinking water sources based on biotesting and studying sanitary and chemical indicators has been developed and tested.

**Materials and methods.** The research methods included sanitary and chemical analysis of water samples, as well as biotesting methods using single-celled green alga *Chlorella vulgaris* Beijer and bull spermatozoa.

**Results.** For experimental approbation of the developed algorithm for determining the hygienic safety of water based on a two-component system of express biotesting and measurement of sanitary and chemical indicators, 6 underground and 5 surface water sources were evaluated. The response of test objects indicating the presence of acute toxicity in water samples taken from surface and underground in many cases correlates with the excess of MPC for individual indicators identified by sanitary and chemical analysis. For two water samples, differences were found between the results of biotesting and sanitary-chemical analysis, and therefore it is necessary to conduct an extended toxicological and chemical assessment to identify the source of toxic effects.

**Limitations.** The two-component test system cannot be used separately without sanitary and chemical analysis of water media.

**Conclusion.** Biotesting can be an addition to sanitary and chemical analyses, showing the presence of toxic substances that are not in the list of mandatory indicators to be determined (according to MR 2.1.4.0176–20 (in Russian)).

**Keywords:** sources of drinking water; sanitary and chemical analysis; biotesting; two-component test system

**Compliance with ethical standards.** The study does not require the submission of a biomedical ethics committee opinion or other documents.

**For citation:** Gusev Yu.S., Ivanov D.E., Erdniev L.P., Kuzyanov D.A. Kosheleva I.S., Savina K.A., Mikerov A.N. Biotesting for the objectivization of the hygienic evaluation of the surface and underground drinking water sources. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(12): 1450-1457. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1450-1457> <https://elibrary.ru/csmmog> (In Russian)

**For correspondence:** Yurij S. Gusev, MD, PhD, researcher of Laboratory of chemical-biological monitoring of water quality of the Saratov Medical Scientific Centre of Hygiene of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Saratov, 410022, Russian Federation. E-mail: [uran1989@yandex.ru](mailto:uran1989@yandex.ru)

#### Information about authors:

Gusev Yu.S., <https://orcid.org/0000-0001-7379-484X>

Erdniev L.P., <https://orcid.org/0000-0001-5187-7361>

Kosheleva I.S., <https://orcid.org/0000-0003-1992-5305>

Mikerov A.N., <https://orcid.org/0000-0002-0670-7918>

Ivanov D.E., <https://orcid.org/0000-0001-8162-9019>

Kuzyanov D.A., <https://orcid.org/0000-0002-5070-4431>

Savina K.A., <https://orcid.org/0000-0003-4878-8784>

**Contribution:** Gusev Yu.S. – concept and design of the study, writing the text, responsibility for the integrity of all parts of the article; Ivanov D.E. – concept and design of the study, writing the text; Erdniev L.P. – writing the text, editing; Kuzyanov D.A. – collection and processing of material, statistical data processing, writing text, editing; Kosheleva I.S. – collection and processing of material, writing text, editing; Savina K.A. – collection and processing of material, writing text, editing; Mikerov A.N. – concept and design of the study, approval of the final version of the article. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: October 10, 2022 / Accepted: December 8, 2022 / Published: January 12, 2023

## Введение

В настоящее время оценка гигиенической безопасности поверхностных и подземных источников питьевого водоснабжения населения является весьма актуальной проблемой в связи с возрастающей антропогенной нагрузкой на водоисточники, а также изменениями климатических условий. Значительная роль водного фактора в возникновении ряда заболеваний человека не вызывает сомнений. Более того, при возникновении чрезвычайных ситуаций (техногенные аварии, половодье рек и др.) принципиальное значение имеют оперативность и объективность проводимой экспертизы гигиенической безопасности водоисточника, когда требуется быстрое принятие решений, направленных на профилактику отрицательных последствий для здоровья населения.

Современные лаборатории, контролирующие безопасность водопользования, используют классические методы количественного и качественного химического анализа, определяя обязательные показатели, перечисленные в методических рекомендациях<sup>1</sup>. Полученные данные сравниваются с гигиеническими нормативами (ПДК)<sup>2</sup>. Подобный подход имеет ряд недостатков, поскольку количество потенциальных поллютантов постоянно увеличивается, появляются новые загрязняющие вещества, и становится невозможным выявление синергических эффектов химических веществ и токсического влияния продуктов биотрансформации, полное определение всех потенциально опасных соединений в водоисточниках.

Помимо химических методов оценки наличия токсических соединений разработаны методы на основе биотестирования. Наиболее распространёнными тест-объектами являются одноклеточные водоросли, ракообразные, рыбы и др. [1–5].

<sup>1</sup> СанПиН 2.1.3684–21. Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 28 января 2021 г. (с изм. и доп.).

<sup>2</sup> МР 2.1.4.0176–20. Организация мониторинга обеспечения населения качественной питьевой водой из систем централизованного водоснабжения. Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 30 апреля 2020 г.

Именно совокупность биохимических реакций, протекающих в тест-объекте, позволяет полноценно оценить воздействие поллютанта и продуктов его биотрансформации на клеточном и организменном уровнях, включая такие сложные взаимодействия, как синергизм и антагонизм. О необходимости включения методов биотестирования в процедуру гигиенической оценки источников водоснабжения свидетельствует и то обстоятельство, что в настоящее время не представляется возможным смоделировать *in vitro* весь спектр биохимического взаимодействия поллютанта с живой клеткой и организмом.

*Цель работы* – объективизация оценки гигиенической безопасности поверхностных и подземных источников питьевого водоснабжения населения путём дополнительного использования двухкомпонентной системы биотестирования.

## Материалы и методы

Объект исследования – водоисточники, расположенные на территории Саратовской области: малые реки, пруды, родники и скважины.

Пробоотбор осуществляли в 2022 г. в соответствии с ГОСТ «Вода. Общие требования к отбору проб»<sup>3</sup>. Санитарно-химические исследования проб воды и биотестирование проводили на базе Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора. Выбор контролируемых санитарно-химических показателей обусловлен требованиями, предъявляемыми к качеству воды СанПиН 2.1.3684–21 и МР 2.1.4.0176–20.

В качестве тест-объектов при определении острой токсичности проб воды использовали термофильный штамм одноклеточной зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer.<sup>4</sup> («Европолитест», г. Москва, свидетельство на тест-объект от 01 февраля 2022 г.) и половые клетки быка

<sup>3</sup> ГОСТ 31861–2012. Вода. Общие требования к отбору проб. М: Стандартинформ, 2019. 36 с.

<sup>4</sup> ПНД ФТ 14.1:2:3:4.10–04 (Т 16.1:2:2.3:3.7–04). Токсикологические методы контроля. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer.) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. М: Стандартинформ, 2014. 38 с.

Таблица 1 / Table 1

**Результаты биотестирования пробы воды из колодца Вавилов Дол (Ивантеевский район Саратовской области) на *Bulla spermatozoa* и *Chlorella vulgaris*, % ( $M \pm m$ )**

**Results of bioassay of water samples from a well (Vavilov Dol, Ivanteevsky district) for *Bulla spermatozoa* and *Chlorella vulgaris*, % ( $M \pm m$ )**

Кратность разбавления тестируемой пробы, раз Reciprocal dilution of the test sample, times	Показатели токсичности исследуемых проб относительно тест-объектов Toxicity indicators of the studied samples relative to test objects	
	<i>Bulla spermatozoa</i> , показатель индекса токсичности ( $I_t$ ) <i>Bulla spermatozoa</i> , index of toxicity ( $I_t$ )	<i>Chlorella vulgaris</i> , показатель оптической плотности <i>Chlorella vulgaris</i> , optical density index
Контроль / Control	0	0
1	137.0 ± 15.8*	67.6 ± 0.9*
3	128.1 ± 12.1*	47.8 ± 7.2*
9	117.3 ± 10.4	31.5 ± 3.6*
27	111.1 ± 4.6	-3.6 ± 9.0
81	95.1 ± 24.2	-14.4 ± 9.0

Примечание. \* – статистически значимые достоверные различия при  $p \leq 0,05$ .

Note: \* – statistically significant differences at  $p \leq 0.05$

*Bulla spermatozoa*<sup>5</sup> (ООО «Центр репродукции сельскохозяйственных животных Саратовской области», г. Саратов, технологический паспорт № 473 от 10.02.2022 г.).

Выращивание *Chlorella vulgaris* осуществляли в культуре водорослей KB-05 (Европолитест, Россия) согласно методике<sup>4</sup>. Снижение средней величины оптической плотности по сравнению с контролем на 20% и более, а также стимуляция ростовых процессов на 30% и более является критерием токсичности исследуемой пробы воды согласно указанной методике. Показателем, характеризующим токсичность пробы, являлась токсическая кратность разведения (ТКР).

Методика биотестирования на *Bulla spermatozoa* основана на изменении двигательной активности сперматозоидов во времени под воздействием токсических химических соединений, содержащихся в пробе воды<sup>5</sup>. Оценку подвижности сперматозоидов и расчёт показателя токсичности в виде индекса токсического действия ( $I_t$ ) осуществляли посредством автоматического компьютерного анализа микроскопических видеоизображений клеточной суспензии на анализаторе изображений АТ-05 (ООО «Промышленные экологические лаборатории», Россия). Критерием токсического действия пробы является значение индекса токсичности  $120\% \leq I_t \leq 80\%$  согласно методическим рекомендациям<sup>5</sup>.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 7.0 (StatSoft Inc., США). Сравнение полученных данных производили с помощью двустороннего  $t$ -критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

Учитывая существующие различия в чувствительности к ксенобиотикам между представителями мира растений и мира животных, обусловленные морфологическими особенностями клеточного строения и отличиями физиологических систем, выбраны тест-объекты *Chlorella vulgaris* и *Bulla spermatozoa* как наиболее изученные и имеющие утверж-

дённый методический протокол для оценки показателей токсичности проб [6–9]. Выбранные тест-объекты имеют разную природу, поэтому различия метаболизма и физиологии обеспечивают расширение количества откликов в биохимическом спектре реакций, протекающих при жизнедеятельности объектов. Однако при воздействии токсических веществ предполагается изменение направленности вектора чувствительности тест-объектов в предлагаемой двухкомпонентной системе.

Так, основная выраженность тест-функции *Bulla spermatozoa* при оценке токсичности проб напрямую зависит от ионного состава пробы воды: повышение подвижности происходит при увеличении содержания ионов кальция, гидрокарбонатов, калия, цинка, магния, снижении показателя pH [10–14]. Подавление двигательной активности происходит при воздействии ионов алюминия, хрома, кадмия, свинца и железа [15, 16].

Растительная клетка в отличие от животной более чувствительна к воздействию загрязняющих веществ в концентрациях, незначительно превышающих ПДК<sup>1</sup>. Возможно, это связано с выбором репродукции в качестве чувствительной тест-функции.

Несомненно, прямая экстраполяция показателей токсичности с тест-объектов на человека в настоящий момент невозможна из-за отсутствия прямых коррелирующих признаков. Этот факт неоднократно подчёркивал в своих работах Г.Н. Красовский [17, 18]. Однако в рамках настоящих исследований обоснован и разработан способ объективизации оценки гигиенической безопасности воды источников с целью повышения достоверности оценки её качества и сокращения времени оценки по содержанию нормируемых химических веществ. В этом случае использование двухкомпонентной биотест-системы имеет обоснованием критерий подобия метаболических, эндо- и экзокринных функций и опирается на принципы экстраполяции альтернативных моделей второго уровня [19].

В качестве апробации методической и критериальной совместности выбранных способов экспресс-биотестирования в двухкомпонентной системе проведено исследование, предполагающее выявление зависимости между величиной индекса токсичности пробы для *Bulla spermatozoa* и показателем изменения численности тест-культуры *Chlorella vulgaris* при исследовании водной пробы. Для этого отобраны пробы воды из колодца Вавилов Дол (Ивантеевский район Саратовской области). Согласно данным санитарно-химического анализа, исследуемая проба воды не соответствует санитарно-гигиеническим нормативам по показателю общей минерализации (превышение ПДК более чем в 2 раза).

В рамках эксперимента производили разбавление исходной пробы воды в 3, 9, 27 и 81 раз. В подготовленные образцы отдельно помещали тест-объекты *Bulla spermatozoa* и *Chlorella vulgaris* (табл. 1).

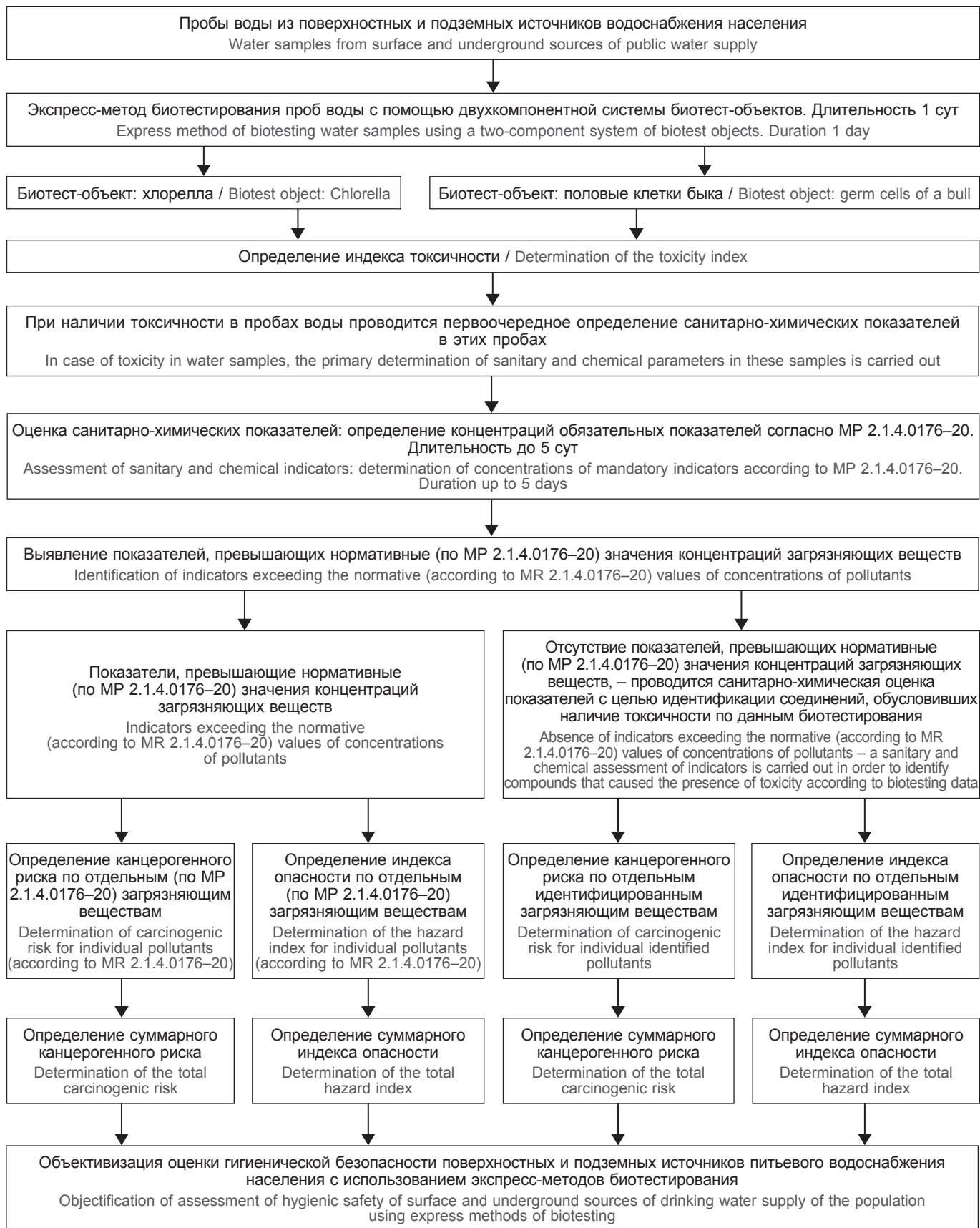
Как отмечено выше, избыток в воде ионов калия, магния и кальция приводил к повышению двигательной активности *Bulla spermatozoa* более чем на 120%, данный показатель тест-функции является критерием токсического воздействия пробы на тест-объект.

При повышении минерализации отмечалось снижение активности в размножении культуры *Chlorella vulgaris*, однако при снижении концентрации солей наблюдался активный рост численности культуры клеток.

Методология биотестирования, как указано выше, не должна быть взаимозаменяемой относительно санитарно-химического анализа водных сред. При разработке алгоритма оценки качества водоисточников нами предлагается использование совокупности методологий обоснованной двухкомпонентной системы экспресс-биотестирования и санитарно-химического анализа (см. рисунок).

В соответствии с предложенным алгоритмом на первый план исследований выходит экспресс-биотестирование обоснованной двухкомпонентной системой с *Bulla spermatozoa* и *Chlorella vulgaris* в качестве тест-объектов.

<sup>5</sup> МР 2.1.7.2279–07. Экспресс-оценка токсичности отходов производства и потребления на культуре клеток млекопитающих. М: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. 12 с.



Алгоритм оценки гигиенической безопасности водисточников на основе двухкомпонентной системы экспресс-биотестирования и измерения санитарно-химических показателей.

Algorithm for assessing the hygienic safety of water sources on the basis of a two-component system of rapid testing and measurement of health and chemical indicators.

Таблица 2 / Table 2

Результаты биотестирования и санитарно-химического анализа проб воды из подземных водоисточников  
Results of biotesting and sanitary-chemical analysis of water samples from underground water sources

Ключевые показатели качества воды Key water quality indicators	ПДК, значения индексов в пределах нормы MPC, index values within the normal range	Номер водоисточника / Number of the water source					
		1	2	3	4	5	6
		Значения показателей качества воды Values of water quality indicators					
Жёсткость, °Ж / Hardness, °Н	не более / no more 10	3.8	3.8	9.6	5.6	<b>10.7</b>	1.65
pH, ед. units / рН, units	6.0–9.0	7.3	7.4	7.1	7.4	7.0	6.7
Нитраты, мг/дм <sup>3</sup> / Nitrates, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 45	22.2	11.7	<b>71.0</b>	< 0.2	< 0.2	< 0.2
Хлориды, мг/дм <sup>3</sup> / Chlorides, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 350	198.0	23.5	38.0	76.0	179	12.2
Сульфаты, мг/дм <sup>3</sup> / Sulfates, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 500	103.0	101.0	204.0	80.0	132	40
Общая минерализация, мг/дм <sup>3</sup> Total Dissolved Solids, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1500	510.0	240.0	525.0	384.0	641	183
Фториды, мг/дм <sup>3</sup> / Fluoride, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1.5	0.53	0.42	0.53	0.48	< 0.1	0.31
Марганец, мг/дм <sup>3</sup> / Manganese, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0.1	0.04	0.04	<b>0.28</b>	<b>2.1</b>	<b>0.20</b>	0.08
Железо общее, мг/дм <sup>3</sup> / Total ferrous, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0.3	< 0.03	< 0.03	< 0.03	0.13	< 0,03	0.32
Мышьяк, мкг/дм <sup>3</sup> / Arsenic, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 10	1.5	4.4	9.8	<b>24</b>	–	–
Кадмий, мкг/дм <sup>3</sup> / Cadmium, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1	0.54	0.67	0.05	0.001	–	–
Никель, мкг/дм <sup>3</sup> / Nickel, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 20	6.4	9.4	5.2	2.31	–	–
Литий, мг/дм <sup>3</sup> / Lithium, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0.03	< 0.02	< 0.02	<b>0.035</b>	–	< 0,02	< 0,02
Хром, мкг/дм <sup>3</sup> / Chrome, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 50	3.08	2.08	4.21	0.07	–	–
Свинец, мкг/дм <sup>3</sup> / Plumbum, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 10	0.15	0.08	0.25	0.35	–	–
Медь, мкг/дм <sup>3</sup> / Copper, µ/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1000	6.2	1.92	9.67	1.19	–	–
Цинк, мг/ дм <sup>3</sup> / Zinc, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 5	0.003	0.03	0.02	0.00002	–	–
Бор, мг/дм <sup>3</sup> / Bohr, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0,5	0.08	0.08	0.14	0.19	–	–
Индекс токсичности <i>I</i> , %, по тест-объекту <i>Chlorella vulgaris</i> Toxicity index <i>Chlorella vulgaris I</i> , %	$-30 < I < 20$	–21.38	8.0	<b>43.98</b>	<b>41.04</b>	<b>–39.73</b>	<b>65.71</b>
Индекс токсичности по тест-объекту <i>Bulla spermatozoa</i> , <i>I</i> , % Toxicity index <i>Bulla spermatozoa I</i> , %	$80 \leq I_i \leq 120$	119.5	117.8	118.4	117.7	101.4	<b>131.2</b>
Экологический класс опасности водного объекта по результатам тестирования двухкомпонентной тест-системой Class of environmental hazard on the results of testing for 2-component test-sistem		IV малоопасные low risk	IV малоопасные low risk	IV малоопасные low risk	IV малоопасные low risk	IV малоопасные low risk	III умеренно опасные moderate risk

Примечание. Здесь и в табл. 3: 1 – родник Часовенный, г. Саратов; 2 – родник Поющий, г. Саратов; 3 – родник на ул. 6-й Динамовский проезд, г. Саратов; 4 – родник с. Семёновка, Фёдоровский р-н, Саратовская обл.; 5 – скважина с разводящей сетью, п. Старая Жуковка, Базарно-Карабулакский р-н, Саратовская обл., точка потребителя; 6 – скважина с разводящей сетью, п. Старая Жуковка, Базарно-Карабулакский р-н, Саратовская обл., водонапорная колонка.

Note: Here and in Table 3: 1 – spring «Chasovennyj», Saratov; 2 – spring «Poyushchij», Saratov; 3 – spring, 6-й Dinamovskij street, Saratov; 4 – spring, village Semenovka, Fedorovskij district, Saratov region; 5 – Well with a distribution networks, village Staraya Zhukovka, Bazarno-Karabulakskij district Saratov region, consumer's point; 6 – Well with a distribution networks, village Staraya Zhukovka, Bazarno-Karabulakskij district, water column.

При возникновении противоречия между данными биотестирования и санитарно-химического анализа пробы воды отправляются в специализированную токсикологическую лабораторию для проведения расширенных исследований на предмет определения токсинов или химических соединений, не входящих в перечень определяемых в ходе стандартной санитарно-гигиенической оценки.

В данном случае возможно предположить воздействие на организм тест-объектов токсинов, в том числе неизвестных, или наличие синергических токсических эффектов при взаимодействии загрязняющих веществ и продуктов их распада. Независимо от результатов санитарно-химического анализа необходимо проведение оценки по канцерогенному риску и по определению класса опасности отдельных загрязняющих веществ.

Таким образом, время оценки безопасности водоисточника может иметь принципиальное значение при воз-

никновении чрезвычайных ситуаций (техногенные аварии, паводки рек и др.), когда требуется быстрое принятие решений, направленных на предотвращение отрицательных последствий для здоровья населения.

Для экспериментальной апробации разработанного алгоритма определения гигиенической безопасности воды на основе двухкомпонентной системы экспресс-биотестирования и измерения санитарно-химических показателей проведена оценка шести подземных и пяти поверхностных водоисточников.

В табл. 2 представлены результаты биотестирования и санитарно-химического анализа подземных водоисточников, полученные в 2022 г. Экологический класс опасности водных объектов определяли на основании документов<sup>5,6</sup>.

В соответствии с алгоритмом первоначально проведены исследования с применением двухкомпонентной системы биотестирования. С учётом принятого критерия оценки ре-

Таблица 3 / Table 3

Результаты биотестирования и санитарно-химического анализа проб воды из поверхностных водоисточников  
Results of biotesting and sanitary-chemical analysis of water samples from surface water sources

Ключевые показатели качества воды Key water quality indicators	ПДК, значения индексов в пределах нормы MPC, index values within the normal range	Номер водоисточника / Number of the water source				
		1	2	3	4	5
		Значения показателей качества воды Values of water quality indicators				
Жёсткость, °Ж / Hardness, °Н	не более / no more 10	4.7	5.7	11.8	7.8	5.4
рН, ед. units / pH, units	6.0–9.0	8.0	7.9	8.1	8.4	7.9
Нитраты, мг/дм <sup>3</sup> / Nitrates, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 45	0.34	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
Хлориды, мг/дм <sup>3</sup> / Chlorides, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 350	131	158	<b>385</b>	<b>403</b>	95
Сульфаты, мг/дм <sup>3</sup> / Sulfates, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 500	84	115	485	151	102
Общая минерализация, мг/дм <sup>3</sup> Total Dissolved Solids, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1500	418	500	1378	867	424
Фториды, мг/дм <sup>3</sup> / Fluoride, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1.5	0.22	0.27	0.46	0.29	0.28
Марганец, мг/дм <sup>3</sup> / Manganese, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0.1	0.056	0.057	0.085	0.043	0.084
Железо общее, мг/дм <sup>3</sup> / Total ferrous, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0.3	0.01	0.02	0.03	0.05	0.02
Мышьяк, мкг/дм <sup>3</sup> / Arsenic, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 10	2.4	1.5	2.5	–	3.3
Кадмий, мкг/дм <sup>3</sup> / Cadmium, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1	0.01	0.05	0.05	–	0.04
Никель, мкг/дм <sup>3</sup> / Nickel, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 20	0.8	1.1	1.4	–	0.6
Литий, мг/дм <sup>3</sup> / Lithium, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0.03	< 0.02	< 0.02	<b>0.037</b>	< 0.02	< 0.02
Хром, мкг/дм <sup>3</sup> / Chrome, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 50	0.2	0.5	0.5	–	0.05
Свинец, мкг/дм <sup>3</sup> / Plumbum, µg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 10	0.4	0.6	0.7	–	1.5
Медь, мкг/дм <sup>3</sup> / Copper, µ/dm <sup>3</sup>	не более / no more 1000	0.4	0.5	0.6	–	< 0.01
Цинк, мг/дм <sup>3</sup> / Zinc, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 5	< 0.002	< 0.002	< 0.002	–	< 0.002
Бор, мг/дм <sup>3</sup> / Bohr, mg/dm <sup>3</sup>	не более / no more 0.5	0.19	–	–	–	0,22
ХПК, мгО <sub>2</sub> /дм <sup>3</sup> / COD, mgO <sub>2</sub> /dm <sup>3</sup>	не более / no more 30	<b>44.5</b>	29.4	<b>78.4</b>	<b>41.2</b>	<b>46.6</b>
Индекс токсичности I, %, по тест-объекту <i>Chlorella vulgaris</i> Toxicity index <i>Chlorella vulgaris</i> I, %	–30 < I < 20	<b>35.53</b>	<b>21.05</b>	<b>54.40</b>	<b>–36.27</b>	<b>–31.37</b>
Индекс токсичности по тест-объекту <i>Bulla spermatozoa</i> , I, % Toxicity index <i>Bulla spermatozoa</i> I, %	80 ≤ I <sub>i</sub> ≤ 120	<b>141.4</b>	117.3	<b>128.8</b>	<b>145.0</b>	107.4
Экологический класс опасности водного объекта по результатам тестирования двухкомпонентной тест-системой Class of environmental hazard on the results of testing for 2-component test-sistem		III умеренно опасные moderate risk	IV малоопасные low risk	III умеренно опасные moderate risk	III умеренно опасные moderate risk	III умеренно опасные moderate risk

зультатов биотестирования при несоответствии результатов решение об опасности пробы воды из водоисточника принимается по реакции наиболее чувствительного тест-объекта.

Реакция *Chlorella vulgaris*, указывающая на острую токсичность проб воды, взятых из подземных водоисточников, расположенных на 6-м Динамовском проезде (г. Саратов), в селе Семёновка (Фёдоровский район, Саратовская обл.) и в посёлке Старая Жуковка у потребителя (Базарно-Карабулакский район, Саратовская обл.), соотносится с превышениями ПДК по отдельным показателям, выявленным с помощью санитарно-химического анализа. Для пробы воды из скважины 6, расположенной в посёлке Старая Жуковка, тест-объекты показали умеренную токсичность, в то время как превышения ПДК по обязательным санитарно-химическим показателям (по МР 2.1.4.0176–20<sup>2</sup>) не обнаружены (см. табл. 2). В связи с этим необходимо проведение дополнительного детализированного санитарно-химического анализа для идентификации токсикантов, воздействующих на тест-объект.

По такому же алгоритму оценены пробы воды из поверхностных источников водозабора для ряда населённых пунктов. Результаты биотестирования и санитарно-химического анализа представлены в табл. 3.

По результатам исследования в 80% случаев установлено соответствие между индексом токсичности, выявленным с помощью тест-объектов, и обязательными санитарно-химическими показателями (по МР 2.1.4.0176–20<sup>2</sup>). При этом тест-объект *Chlorella vulgaris* показал наличие токсического эффекта у всех исследуемых проб. В то же время тест-объект *Bulla spermatozoa* показал наличие токсического эффекта только в трёх пробах из пяти исследуемых.

## Обсуждение

Предложенный алгоритм использования методов двухкомпонентной системы биотестирования в комплексе с санитарно-химическим анализом в ходе экспериментального апробирования показал достаточную эффективность при выявлении источников с превышением ПДК по ключевым показателям. В данной статье рассматривается вопрос о совмещении методов биотестирования и санитарно-химического анализа в единый алгоритмический комплекс. При этом двухкомпонентная система биотестирования включает в себя два разных по морфологическим и физиологическим показателям тест-объекта – животные и растительные клетки.

Первичная экспериментальная апробация в виде экспресс-биотестирования воды из колодца Вавилов Дол с использованием двухкомпонентной системы показала результативность метода. По показателям экспресс-биотестирования вода не соответствует санитарно-гигиеническим требованиям и представляет опасность для потребления населением.

Последующие исследования, направленные на апробацию разработанного алгоритма оценки гигиенической безопасности водоисточников на основе двухкомпонентной системы экспресс-биотестирования и измерения санитарно-химических показателей, подтвердили, что своевременная экспресс-оценка позволяет сделать предварительное заключение о качестве воды в водоисточнике в течение суток и предотвратить потребление воды населением в случае признания её опасной до получения результатов санитарно-химической экспертизы, на проведение которой может потребоваться пять и более суток.

Для пробы воды из источника, расположенного в посёлке Старая Жуковка (скважина 6), выявлено несоответствие между результатами биотестирования и санитарно-химическим анализом (см. табл. 2). Тест-объекты показали умеренную токсичность, в то время как превышения ПДК по обязательным санитарно-химическим показателям (по МР 2.1.4.0176–20) не обнаружены. В связи с этим необходимо проведение дополнительного детализированного санитарно-химического анализа для идентификации токсикантов, наличие которых показал тест-объект, в водоисточнике.

Анализ пробы из реки Малый Узень (река 2, см. табл. 3) с водозабором в селе Новотулка (Питерский район, Саратовская обл.) требует повторной оценки, так как было определено небольшое превышение предельного индекса токсичности для тест-объекта *Chlorella vulgaris* (на 1,05%), в то время как превышения ПДК по санитарно-химическим показателям не наблюдалось. При подтверждении токсичности пробы необходимо оценить качество воды с целью уточнения параметров загрязняющих веществ в зависимости от типа водоисточника (согласно минимальному обязательному перечню показателей) и условий формирования качества воды конкретного водоисточника.

Особое внимание заслуживает проба из Сокорного пруда с водозабором в посёлке Сокорная Балка (Ершовский район, Саратовская обл.). Высокий уровень химического потребления кислорода (ХПК) свидетельствует о загрязне-

нии водоисточника органическими соединениями<sup>6</sup>, поэтому для обеспечения гигиенической безопасности населения данный объект подлежит более детальному исследованию с определением широкого спектра контаминантов.

Полученные результаты санитарно-гигиенической оценки водоисточников Саратовской области подтвердили перспективность использования предложенного нами алгоритма.

Предлагаемая двухкомпонентная биотест-система может стать дополнением к стандартному санитарно-химическому анализу, что особенно актуально при наличии в пробах воды токсических веществ, которые отсутствуют в перечне обязательных показателей, определяемых по МР 2.1.4.0176–20.

## Заключение

1. Предложенная двухкомпонентная система биотестирования для экспресс-оценки качества поверхностных и подземных источников водоснабжения населения позволяет оперативно изучить их гигиеническую безопасность.

2. Разработан алгоритм оценки гигиенической безопасности водоисточников, который включает первоначальное биотестирование проб воды с помощью двухкомпонентной системы с использованием в качестве тест-объектов *Chlorella vulgaris* и *Bulla spermatozoa*, с последующим санитарно-химическим анализом обязательных показателей согласно МР 2.1.4.0176–20.

3. Результаты проведённого исследования показали, что тест-объект *Chlorella vulgaris* является более чувствительным к превышениям ПДК марганца, солей жёсткости, нитратов и мышьяка в воде. При этом тест-объект *Bulla spermatozoa* более чувствителен к превышению концентрации органических соединений. Считаем, что данный факт обоснован различием в биохимическом спектре реакций клеток животного и растительного происхождения.

4. Использование предложенной тест-системы позволит выявить токсические вещества, которые не входят в перечень обязательных показателей согласно МР 2.1.4.0176–20, подтвердить синергический эффект различных соединений, а также способствовать обнаружению новых неизвестных поллютантов, содержащихся в воде источников питьевого водоснабжения.

<sup>6</sup> РД 52.24.531–2016. Химическое потребление кислорода в водах. Методика измерений титриметрическим методом с минерализацией проб в терморекторе. Ростов н/Д: Росгидромет, 2016. 23 с.

## Литература

(п.п. 2–4, 6, 7, 10–16 см. References)

1. Тулакин А.В. Биотестирование как критерий гигиенической оценки качества вод. *Санитарный врач*. 2018; (9): 44–9.
5. Каменец А.Ф., Иванов Д.Е. Возможности применения методов биотестирования для оценки загрязнения марганцем источников водоснабжения населения. *Санитарный врач*. 2019; (3): 68–73.
8. Чупис В.Н., Журавлёва Л.Л., Жирнов В.А., Ларин И.Н., Лушай Е.А., Емельянова Н.В. и др. Оценка качества воды водоёма охладителя Балаковской атомной электростанции методами биомониторинга. *Теоретическая и прикладная экология*. 2008; (2): 43–50.
9. Муфтиева Р.Р., Мусифуллина Г.А., Валиева Ч.З. Оценка токсичности солей тяжёлых металлов на рост и развитие *Chlorella vulgaris*.

*Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы*. 2020; (2): 112–7.

17. Красовский Г.Н., Егорова Н.А. Методологические ошибки использования биологического тестирования в гигиенических исследованиях. *Гигиена и санитария*. 2000; 79(4): 64–6.
18. Красовский Г.Н., Рахманин Ю.А., Егорова Н.А. *Экстраполяция токсикологических данных с животных на человека*. М.: Медицина; 2009.
19. Каркищенко Н.Н. Через критерии подобия и аллометрии к валидации и экстраполяции в биомедицине. *Биомедицина*. 2007; (1): 5–28.

## References

1. Tulakin A.V. Biotesting as a criterion for hygienic assessment of water quality. *Sanitary vrach*. 2018; (9): 44–9. (in Russian)
2. Xu J., Wei D., Wang F., Bai C., Du Y. Bioassay: A useful tool for evaluating reclaimed water safety. *J. Environ. Sci. (China)*. 2020; 88: 165–76. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.08.014>
3. Babić S., Malev O., Pflieger M., Lebedev A.T., Mazur D.M., Kužić A., et al. Toxicity evaluation of olive oil mill wastewater and its polar fraction using multiple whole-organism bioassays. *Sci. Total Environ.* 2019; 686: 903–14. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.046>
4. Rodrigues S., Pinto I., Martins F., Formigo N., Antunes S.C. Can biochemical endpoints improve the sensitivity of the biomonitoring strategy using bioassays with standard species, for water quality evaluation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021; 215: 112151. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112151>
5. Kamenets A.F., Ivanov D.E. The possibilities of applying biotesting methods in the integrated assessment of the quality of surface water supply sources of the population. *Sanitarnyy vrach*. 2019; (3): 68–73. (in Russian)
6. Hee C.W., Shing W.L., Chi C.K. Effect of Lead (Pb) exposure towards green microalgae (*Chlorella vulgaris*) on the changes of physicochemical parameters in water. *South Afr. J. Chem. Eng.* 2021; 37: 252–5. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2021.04.002>
7. Karlander E.P., Krauss R.W. Absorption and toxicity of beryllium and lithium in *Chlorella vanniellii* Shihira and Krauss. *Chesapeake Sci.* 1972; 13(4): 245–53.
8. Чупис В.Н., Журавлёва Л.Л., Жирнов В.А., Ларин И.Н., Лушай Е.А., Емельянова Н.В., et al. Estimation of water quality in the cooling-reservoir of Balakovo atomic electric power station by means of biomonitoring method. *Теоретическая и прикладная экология*. 2008; (2): 43–50. (in Russian)

## Original article

9. Muftieva R.R., Musifullina G.A., Valieva Ch.Z. Assessment of the toxicity of hard metal salts to the growth and development of *Chlorella vulgaris*. *Vestnik Bashkirskego gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta im. M. Akmully.* 2020; (2): 112–7. (in Russian)
10. Darszon A., Nishigaki T., Beltran C., Treviño C.L. Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. *Physiol. Rev.* 2011; 91(4): 1305–55. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2010>
11. Carlson A.E., Hille B., Babcock D.F. External  $\text{Ca}^{2+}$  acts upstream of adenylyl cyclase SACY in the bicarbonate signaled activation of sperm motility. *Develop. Biol.* 2007; 312(1): 183–92. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.09.017>
12. Martínez-López P., Santi C.M., Treviño C.L., Ocampo-Gutiérrez A.Y., Acevedo J.J., Alisio A., et al. Mouse sperm  $\text{K}^+$  currents stimulated by pH and cAMP possibly coded by Slo3 channels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009; 381(2): 204–9.
13. Kaludin I., Georgiev G.T., Marinov M.F. Zinc and manganese transport in ram sex cells. *Veterinary-medical sciences.* 1983; 20(1): 91–6. (in Bulgarian)
14. Ho H.C., Granish K.A., Suarez S.S. Hyperactivated motility of bull sperm is triggered at the axoneme by  $\text{Ca}^{2+}$  and not cAMP. *Develop. Biol.* 2002; 250(1): 208–17. <https://doi.org/10.1006/dbio.2002.0797>
15. Yousef M.I., El-Morsey A.M., Hassan M.S. Aluminium-induced deterioration in reproductive performance and seminal plasma biochemistry of male rabbits: protective role of ascorbic acid. *Toxicol.* 2005; 215(1-2): 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.06.025>
16. Marzec-Wróblewska U., Kamiński P., Lakota P. Influence of chemical elements on mammalian spermatozoa. *Folia Biologica.* 2012; 58(1): 7–15. (in Czech)
17. Krasovskiy G.N., Egorova N.A. Methodological errors in the use of biological testing in hygienic research. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal).* 2000; 79(4): 64–6. (in Russian)
18. Krasovskiy G.N., Rakhmanin Yu.A., Egorova N.A. *Extrapolation of Toxicological Data from Animals to Humans [Ekstrapolyatsiya toksikologicheskikh dannyykh s zhivotnykh na cheloveka]*. Moscow: Meditsina; 2009. (in Russian)
19. Karkishchenko N.N. Through similarity and allometry criteria to validation and extrapolation in biomedicine. *Biomeditsina.* 2007; (1): 5–28. (in Russian)