



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1068083** **A**

3(51) **A 01 K 61/00; G 01 N 33/18**

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

РПФК

И АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 3470469/28-13

(22) 14.07.82

(46) 23.01.84. Бюл. № 3

(72) В.В.Емельяненко, А.Н.Крайнюкова, Г.Н.Катриченко и А.Г.Васенко

(71) Всесоюзный научно-исследовательский институт по охране вод

(53) 639.3.05(088.8)

(56) 1. Патент Франции № 2170514, кл. G 01 N 33/00, 1973.

2. Авторское свидетельство СССР № 686698, кл. A 01 K 61/00, 1977.

3. Методики биологических исследований по водной токсикологии, М., "Наука", 1971, с.143-147 (прототип).

4. Колупаев Б.И., Андреев А.А., Самойленко Ю.К. Оптический метод регистрации сердечного ритма у дафний. - "Гидробиологический журнал", вып. 3, т. XII. 1977, с.119-120 (прототип).

(54) СПОСОБ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ВОДЫ И УСТРОЙСТВО ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ВОДЫ

(57) 1. Способ биологической оценки токсичности воды с использованием в качестве тест-объектов дафний, предусматривающий разделение дафний на две группы - опытную и контрольную, размещение каждой группы в соответствующей камере, пропуск через камеру с контрольной группой дафний чистой воды и через камеру с опытной группой - исследуемой воды, регистрацию физиологического состояния дафний в группах и сравнение полученных результатов, отличающийся тем, что, с целью повышения чувствительности, скорости и достоверности оценки, первоначально через обе камеры пропускают с одинаковой скоростью чистую воду с температурой 16-23°C, а с

началом пропуска через камеру с опытной группой дафний исследуемой воды температуру воды в камерах повышают с одинаковой скоростью до 26-35°C, при этом в качестве показателя физиологического состояния дафний регистрируют изменение частоты движений их элиподитов, о токсичности воды судят по разности средних частот движений элиподитов в опытной и контрольной группах, а оценку степени токсичности производят по величине промежутка времени, в течение которого достигается снижение средней частоты движений элиподитов дафний в опытной группе на 50% по сравнению с частотой движений элиподитов дафний в контрольной группе.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что чистую воду пропускают через камеры в течение 30-60 мин.

3. Способ по пп.1 и 2, отличающийся тем, что повышение температуры воды в камерах ведут со скоростью 0,5-3,0°C в 1 мин.

4. Устройство для биологической оценки токсичности воды, включающее камеры для дафний, систему подвода и отвода воды по патрубкам и систему регистрации частоты движений элиподитов, состоящую из источника света, оптического прибора, фотоприемника и блока регистрации, отличающееся тем, что, с целью повышения чувствительности, скорости и достоверности оценки, оно содержит дополнительную систему регистрации частоты движений элиподитов, блоки регулирования температуры, усилители, блок сравнения, блок измерения временного интервала, блок управления, две кассеты для размещения камер для дафний, каждая из которых оснащена механизмом пере-

№ **SU** (11) **1068083** **A**

мещения для последовательной установки камер под оптический прибор, и гидрораспределитель для подачи к камерам соответственно чистой и исследуемой воды, фотоприемники связаны с блоками регистрации через усилители, выходы блоков регистрации каждой системы соединены с блоком сравнения, выход которого связан с блоком управления и блоком измерения временного интервала,

второй вход которого соединен с блоком управления, при этом патрубки системы подвода и отвода воды выполнены гибкими, патрубки для подвода воды подключены к гидрораспределителю через блоки регулирования температуры, а блок управления связан с блоками регулирования температуры, механизмом перемещения кассет, вторыми входами блоков регистрации с гидрораспределителем и источниками света.

Изобретение относится к исследованию химических свойств веществ, а именно к оценке токсичности жидкости с помощью биологических объектов, и может быть использовано для контроля качества вод, например сточных вод промышленных предприятий.

Известен способ оценки токсичности вод с использованием в качестве тест-объектов рыб, предусматривающий регистрацию двигательной активности рыб, помещенных в бак с исследуемой водой, при этом для осуществления способа используют устройство, состоящее из смонтированных в баке контактов, при прикосновении к которым создаются электрические импульсы, схемы запоминания и блока сигнализации [1].

Недостаток данного способа заключается в том, что характер поведения рыб зависит как от их биологического вида, возраста, внешних раздражающих факторов, условий содержания, так и от концентрации типов и совокупности токсических веществ, содержащихся в воде, что снижает чистоту опыта.

Известен также способ биологической оценки токсичности воды, основанный на использовании в качестве тест-объектов рыб, сущность которого состоит в том, что оценку токсичности ведут по дыхательной реакции рыб, при этом для осуществления способа используют устройство, состоящее из измерительной камеры с перегородками для помещения между ними рыб, электродов, соединенных с измерительным блоком и блока регистрации. О токсичности воды при оценке ее этим способом судят по параметрам записанных биопотенциалов [2].

Однако параметры биопотенциалов зависят не только от токсичности воды, но и от наличия в ней кисло-

рода, от ее кислотности и от активности поведения рыб. Кроме того, наводимые на электродах биопотенциалы малы и поэтому они требуют значительного усиления, что существенно усложняет борьбу с помехами и затрудняет осуществление способа.

Наиболее близким к изобретению по технической сущности является способ биологической оценки токсичности воды с использованием в качестве тест-объектов дафний, предусматривающий разделение дафний на две группы - опытную и контрольную, размещение каждой группы в соответствующей камере, пропуск через камеру с контрольной группой дафний чистой воды, а через камеру с опытной группой - исследуемой воды, регистрацию физиологического состояния дафний в группах и сравнение полученных результатов [3].

Известный способ основан на регистрации в качестве физиологического состояния дафний их выживаемости или изменения поведения, причем исследование проводят при одинаковом температурном режиме, что не дает возможности в течение короткого времени получить четкие и достоверные результаты оценки токсичности.

Наиболее близким к изобретению по технической сущности и достигаемому результату является устройство, включающее камеры для дафний, систему подвода и отвода воды с патрубками и систему регистрации частоты движений эпиподитов, состоящую из источника света, оптического прибора, фотоприемника и блока регистрации [4].

Недостатком известного устройства является его низкая чувствительность и недостаточная экспрессность в обнаружении токсичности, что вызвано измерением частоты движения

эпиподитов при постоянной температуре.

Цель изобретения - повышение чувствительности быстроты и достоверности оценки токсичности.

Цель достигается тем, что согласно способу биологической оценки токсичности воды с использованием в качестве тест-объектов дафний, предусматривающему разделение дафний на две группы - опытную и контрольную, размещение каждой группы в соответствующей камере, пропуск через камеру с контрольной группой дафний чистой воды и через камеру с опытной группой - исследуемой воды, регистрацию физиологического состояния дафний в группах и сравнение полученных результатов, первоначально через обе камеры пропускают с одинаковой скоростью чистую воду с температурой 16-23°C, а с началом пропуска через камеру с опытной группой дафний исследуемой воды температуру воды в камерах повышают с одинаковой скоростью до 26-35°C, при этом в качестве показателя физиологического состояния дафний регистрируют изменение частоты движений их эпиподитов, о токсичности воды судят по разности средних частот движений эпиподитов в опытной и контрольной группах, а оценку степени токсичности производят по величине промежутка времени, в течение которого достигается снижение средней частоты движений эпиподитов дафний в опытной группе на 50% по сравнению с частотой движения эпиподитов дафний в контрольной группе.

Кроме того, чистую воду пропускают через камеры в течение 30-60 мин.

Повышение температуры воды в камерах ведут со скоростью 0,5-3,0°C в 1 мин.

Устройство для биологической оценки токсичности воды, включающее камеры для дафний, систему подвода и отвода воды с патрубками и систему регистрации частоты движений эпиподитов, состоящую из источника света, оптического прибора, фотоприемника и блока регистрации, содержит дополнительную систему регистрации частоты движений эпиподитов, блоки регулирования температуры, усилители, блок сравнения, блок измерения временного интервала, блок управления, две кассеты для размещения камер для дафний, каждая из которых оснащена механизмом перемещения для последовательной установки камер под оптический прибор, и гидрораспределитель для подачи к камерам соответственно чистой и ис-

следуемой воды, фотоприемники связаны с блоками регистрации через усилители, выходы блоков регистрации каждой системы соединены с блоком сравнения, выход которого связан с блоком управления и блоком измерения временного интервала, второй вход которого соединен с блоком управления, при этом патрубки системы подвода и отвода воды выполнены гибкими, патрубки для подвода воды подключены к гидрораспределителю через блоки регулирования температуры, а блок управления связан с блоками регулирования температуры, механизмом перемещения кассет, вторыми входами блоков регистрации с гидрораспределителем и источниками света.

На фиг.1 изображено устройство для биологической оценки токсичности воды; на фиг.2 - кассета с камерами для дафний.

Способ осуществляется следующим образом.

Дафний разделяют на две группы - опытную и контрольную, размещают каждую группу в соответствующей камере и через последние в течение 30-60 мин. пропускают чистую воду при 16-23°C, после чего через камеры с опытной группой дафний начинают пропускать исследуемую воду, а через камеры с контрольной группой продолжают пропускать чистую воду и одновременно повышают с равной скоростью 0,5-3,0°C в 1 мин температуру воды в обеих камерах до 26-35°C, при этом регистрируют изменение средней частоты движений эпиподитов и судят о токсичности по разности средних частот движений эпиподитов в опытной и контрольной группах, а оценку степени токсичности производят по величине промежутка времени, в течение которого средняя частота движений эпиподитов дафний в опытной группе изменяется на 50% по сравнению с контрольной группой.

Пропуск через все камеры в течение 30-60 мин чистой воды обеспечивает достаточную адаптацию дафний к новым условиям пребывания в камере для того, чтобы основной регистрирующий показатель - частота движений эпиподитов принял свое нормальное значение. Результатом этого является повышение надежности определения токсичности.

Пропуск воды в течение меньшего времени - 30-35 мин. не дает возможности дафниям адаптироваться, а увеличение времени выдерживания свыше указанного предела 30-60 мин. нецелесообразно, поскольку приведет

к снижению экспрессности - быстроты оценки токсичности.

Для осуществления способа имеет значение пропуск чистой воды с одинаковой скоростью, так как это обеспечивает одинаковый температурный режим адаптации для всех дафний, а поддержание температуры воды в пределах 16-23°C создает наиболее благоприятные условия для адаптации, что в итоге повышает чувствительность оценки, при этом с 16-18°C и ниже обменные процессы в организме дафний замедляются и происходит снижение чувствительности к токсичным веществам, а при температуре 23°C и выше происходит адаптация дафний к этим температурам и последующее повышение температуры не дает уже увеличения чувствительности.

Начало регистрации средних частот движений эпилеподитов одновременно с подачей исследуемой воды и повышением температуры обеспечивает повышение чувствительности и сокращает время реакции организма на токсичные вещества и тем самым способствует ускорению оценки токсичности.

Для предотвращения возникновения температурного тока температуру воды повышают со скоростью 0,5-3,0°C в 1 мин. до 26-35°C, что создает оптимальный режим для реакции дафний только на токсичность воды, при температурах выше 35°C начинает проявляться реакция дафний и на температуру воды.

Пример 1. Проводят оценку токсичности искусственно загрязненной отстоянной водопроводной воды, для чего в последнюю вводят 25 мг/л синтетического моющего средства (СМС) "Лотос".

В качестве тест-объекта для осуществления способа используют половозрелых партеногенетических самок дафний из лабораторной культуры, выращенных при 20°C на корме в виде суспензии микроводорослей. 20 экземпляров подготовленных дафний разделяют на опытную и контрольную группы по 10 экземпляров в каждой и помещают в стеклянные проточные камеры, которые размещают в кассетах. Через камеры с опытной и контрольной группами дафний пропускают чистую воду, начальная температура которой составляет 20°C. Чистую воду пропускают в течение 60 мин. Скорость потока поддерживают равной 60 мл/ч. После этого через камеры с опытной группой дафний начинают пропускать исследуемую искусственно загрязненную водопроводную воду, а через камеры с конт-

рольной группой продолжают пропускать чистую воду. Одновременно с подачей исследуемой воды начинают повышать температуру воды в обеих группах камер до 28°C, при этом скорость повышения температуры составляет 0,5°C в 1 мин. Начиная с момента повышения температуры, регистрируют разность средних частот движения эпилеподитов в опытной и контрольной группах. Токсичность исследуемой воды оценивают по величине промежутка времени, в течение которого частота биений эпилеподитов в опытной группе снижается на 50% по сравнению с контрольной, т.е. TE_{50} . Результаты оценки приведены в таблице.

Пример 2. Для оценки токсичности сточной воды химического предприятия, направляемой на биологическую очистку и содержащей такие загрязняющие вещества как Cr^{6+} 0,9 мг/л; Zn^{2+} 0,7 мг/л; Ni^{2+} 0,9 мг/л, в качестве тест-объекта используют дафний, выращенных и подготовленных для измерения аналогично примеру 1. Затем через камеры с опытной и контрольной группами дафний пропускают чистую воду, температура которой составляет 19°C. Чистую воду пропускают в течение 45 мин., поддерживая скорость потока воды, равной 35 мл/ч. После этого через камеры с опытной группой начинают пропускать исследуемую сточную воду, а через камеры с контрольной группой продолжают пропускать чистую воду и одновременно с этим начинают повышать температуру исследуемой воды в опытной группе камер и чистой воды в контрольной группе до 26°C, поддерживая скорость повышения температуры, равную 0,7°C в 1 мин. С момента повышения температуры регистрируют разность средних частот движений эпилеподитов в опытной и контрольной группах. Токсичность исследуемой воды оценивают по величине промежутка времени, в течение которого частота биений эпилеподитов в опытной группе снижается на 50% по сравнению с контрольной, т.е. TE_{50} . Результаты приведены в таблице.

	Температура, °C		TE_{50} , ч
	Начальная	Конечная	
55 Токсикант СМС "Лотос"			
60 25 мг/л	20	28	4
Сточная вода, поступающая на очистку	19	26	1,5
65			

Из таблицы следует, что токсичность сточной воды, поступающей на очистку, выше, чем токсичность воды, содержащей "Лотос", поскольку снижение частоты биений эпилеподитов в опытной группе на 50% по сравнению с контрольной группой в этом случае произошло всего за 1,5 ч.

Устройство для биологической оценки токсичности воды содержит гидрораспределитель 1, блок 2 управления, блоки 3 и 4 регулирования температуры, кассеты 5 и 6 для размещения в них камер 7 с дафниями, механизмы 8 и 9 перемещения кассет и две системы регистрации частоты движений эпилеподитов дафний соответственно для кассет 5 и 6, состоящие из источников 10 и 11 света, оптических приборов 12 и 13 и фотоприемников 14 и 15, связанных через усилители 16 и 17 с блоками 18 и 19 регистрации.

Кроме того, устройство имеет блок 20 сравнения и блок 21 измерения временного интервала. Гидрораспределитель 1 оснащен входными патрубками 22 и 23 для исследуемой и чистой воды и двумя выходными патрубками 24 и 25, последним из которых гидрораспределитель соединен с блоком 3 регулирования температуры, а патрубком 24 - с блоком 4 регулирования температуры.

Блок 3 регулирования температуры посредством гибкого патрубка 26 связан с кассетой 5, а блок 4 посредством такого же патрубка 27 связан с кассетой 6, при этом кассеты 5 и 6 оснащены гибкими патрубками 28 и 29 для отвода воды в сливную трубу 30.

Каждая из кассет 5 и 6, например кассета 5 (фиг.2), установлена на кронштейне 31 в направляющих типа "ласточкин хвост" и перемещается вдоль кронштейна 31 с помощью механизма 8 перемещения, с которым она связана штангой 32 и который может быть выполнен в виде микрометрического механизма, применяемого в микроскопах МБР-1, МБД-2, и связан с приводом, в качестве которого может быть применен электродвигатель с редуктором типа РД-09, оснащенный датчиком угла поворота выходного вала редуктора, включающим двигатель при повороте выходного вала редуктора на заданный угол, соответствующий величине перемещения кассет 5 и 6, равной расстоянию между соседними камерами 7 (двигатель и редуктор не изображены).

Наличие гибких патрубков 26-29 не препятствует перемещению кассет 5 и 6 относительно источников 10

и 11 света и оптических приборов 12 и 13.

Оптические приборы 12 и 13 с источниками 10 и 11 света предназначены для фиксирования светового пучка, модулированного в соответствии с движениями эпилеподитов дафнии, которая находится в фокусе оптического прибора 12 или 13. В качестве оптического прибора может быть использована оптическая система микроскопа.

На пути световых пучков, идущих от источников 10 и 11 света и проходящих через оптические приборы 12 и 13, установлены соответствующие фотоприемники 14 и 15, в качестве которых используют, например, фотодиоды или фоторезисторы.

Выходы блоков 18 и 19 регистрации связаны с входом блока 20 сравнения. Выход блока 20 сравнения соединен с блоком 2 управления и с одним из входов блока 21 измерения временного интервала, а другой вход блока 21 соединен с блоком 2 управления.

Блок 2 управления, в свою очередь, связан с источниками 10 и 11 света, с блоками 3 и 4 регулирования температуры с гидрораспределителем 1 и со вторыми входами блоков 8 и 9 перемещения кассет 5 и 6. Блок 2 управления имеет программный блок (не показан).

В каждой из кассет 5 и 6 размещают 8-12 камер 7, а перемещение кассет 5 и 6 механизмами 8 и 9 осуществлено так, что камеры 7 поочередно пересекают световой луч, идущий от источников 10 и 11 света к оптическим приборам 12 и 13.

Устройство для биологической оценки токсичности воды работает следующим образом.

Наполняют камеры 7 чистой водой и в каждую из камер 7 помещают по одной особи дафний, т.е. их разделяют на опытную и контрольную группы, после чего блоком 2 управления дают команду гидрораспределителю 1 на пропускание чистой воды через обе кассеты 5 и 6. По этой команде открывается входной патрубок 23 и с ним соединяются выходные патрубки 25 и 24, через эти патрубки чистую воду подают в блоки 3 и 4 регулирования температуры, от которых по соответствующим им патрубкам 26 и 27 вода поступает в кассеты 5 и 6. Вода, пройдя каждую из камер 7 в соответствующей кассете 5 или 6, выводится далее в сливную трубу 30 на слив.

Одновременно с началом подачи чистой воды блоком 2 управления дается команда блокам 3 и 4 регулирования температуры на установление

равной в обеих кассетах температуры воды в пределах 16-23°C. Наиболее оптимальной температурой является 20°C, при которой происходит адаптация дафний к новым для них условиям пребывания. Далее в течение 30-60 мин. блоками 3 и 4 поддерживают равную в обеих кассетах установленную температуру 20°C. Затем после такой адаптации дафний в чистой воде при температуре 20°C в течение 30-60 мин. по программе, задаваемой программным блоком 2 управления, в гидрораспределителе 1 выходной патрубок 24 отсоединяют от входного патрубка 23 и присоединяют к входному патрубку 22, который открывают и по нему исследуемую воду, т.е. сточную воду, токсичность которой необходимо оценивать, подают в выходной патрубок 24 и далее через блок 4 регулирования температуры в кассету 6. Чистая вода, поступающая по входному патрубку 23 гидрораспределителя 1 продолжает проходить через выходной патрубок 25 в блок 3 регулирования температуры в кассету 5.

В результате таких присоединений патрубков 22-25 в гидрораспределителе 1 чистая вода проходит кассету 5 с камерами 7, в которых помещены дафнии контрольной группы, а исследуемая вода, т.е. сточная, проходит кассету 6 с камерами 7, в которых помещены дафнии опытной группы. С началом раздельного пропускания чистой и исследуемой воды блоком 2 управления дается команда блокам 3 и 4 повышать температуру воды с 20°C до 26-35°C. Наиболее оптимальной является температура воды 30-31°C. Повышение температуры воды блоками 3 и 4 ведется со скоростью 0,5-3°C в 1 мин., что обеспечивает оптимальный режим адаптации дафний к такому изменению температуры. При 30-31°C создаются оптимальные условия для измерения частоты движений эпилеподитов.

Одновременно с подачей исследуемой воды и началом повышения температуры блок 21 измерения временного интервала начинает отсчет времени. По команде блока 2 управления приводы механизмов 8 и 9 перемещения кассет включаются и кассеты 5 и 6 устанавливаются в положение, при котором в фокусе каждого из оптических приборов 12 и 13 оказывается первая из камер 7, размещенных в соответствующей кассете 5 и 6 с первой дафнией. Интенсивность света, поступающего в фотоприемники 14 и 15, меняется соответственно с движениями эпилеподитов дафний. Электрические сигналы с выходов фотопри-

емников 14 и 15 соответственно усиленные усилителями 16 и 17 поступают на соответствующие входы блоков 18 и 19 регистрации, где производится определение и запоминание частоты первой гармоники этого сигнала.

Через промежуток времени, достаточный для определения частоты первой гармоники (примерно до 20 с) по команде блока 2 управления механизмы 8 и 9 перемещают кассеты 5 и 6 и устанавливают их так, что в фокусах оптических приборов 12 и 13 оказываются вторые камеры 7 с вторыми дафниями. Производится измерение первой гармоники сигнала, соответствующего движениям эпилеподитов вторых дафний каждого канала. Такие перемещения кассет 5 и 6 и соответствующие измерения продолжают до тех пор, пока будут определены первые гармоники сигналов, соответствующие движениям эпилеподитов всех дафний, размещенных в камерах 7 кассет 5 и 6. Определенные таким образом первые гармоники сигналов, соответствующих движениям эпилеподитов всех дафний, являются частотами движений эпилеподитов. Блоки 18 и 19 регистрации определяют средние частоты движений эпилеподитов группы дафний в каждой из кассет и выдают результат определений на блок 20 сравнения. Блоком 20 сравнения определяют насколько средняя частота движения эпилеподитов дафний в опытной группе изменилась по сравнению с контрольной группой, после чего цикл измерений средней частоты движений эпилеподитов повторяют.

Когда средняя частота движений эпилеподитов в кассете 6, через которую проходит исследуемая вода, изменится на определенную величину по сравнению с кассетой 5, через которую пропускают чистую воду, блок 20 сравнения формирует сигнал токсичности, который передается потребителям информации, а также поступает на входы блока 2 управления и блока 21 измерения временного интервала. По этому сигналу блок 21 прекращает отсчет времени, а блок 2 управления переводит устройство в исходное положение.

По времени, прошедшему от начала цикла определения токсичности до формирования сигнала токсичности судят об уровне токсичности контролируемой жидкости.

Длительность цикла измерения средней частоты движений эпилеподитов дафний выбирают значительно меньше длительности цикла определения токсичности, чтобы реакция дафний за время цикла измерения средней частоты движения эпилеподитов существен-

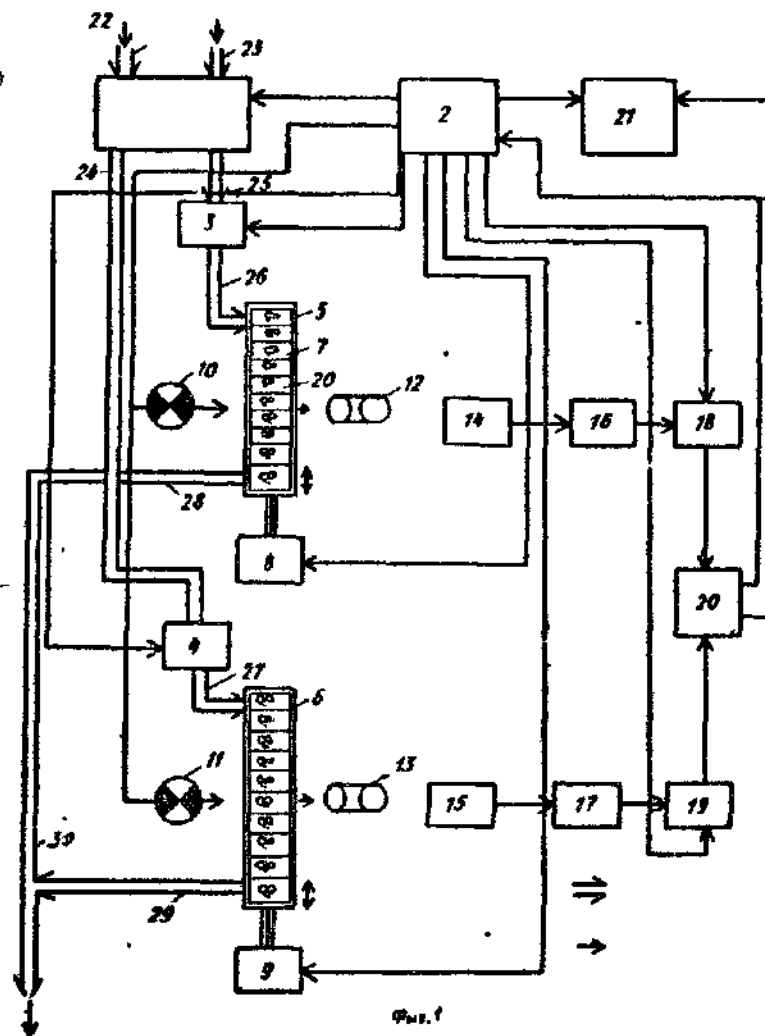
но не изменилась. Это дает возможность повысить точность определения токсичности жидкости.

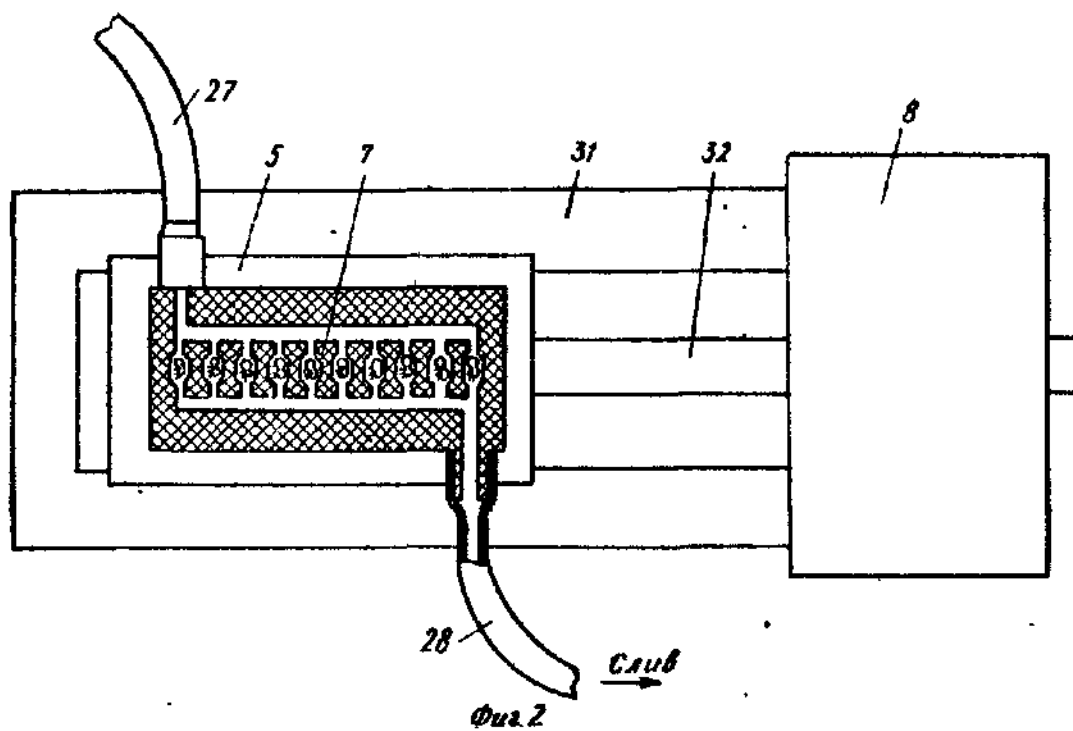
Перевод устройства в исходное состояние заключается в том, что в проточные камеры в обеих кассетах подают чистую воду, а температура воды снижается с заданной скоростью до первоначальной величины. Через определенный промежуток времени цикл определения токсичности жидкости повторяется.

Использование изобретения позволяет автоматизировать процесс контроля токсичности воды, сделать его

непрерывным, что значительно удешевляет контроль. Повышенная надежность в работе устраняет возможность ложного срабатывания, что обеспечивает высокую эффективность контроля.

Предложенное изобретение может найти применение в гидрохимических и гидробиологических лабораториях органов Госводинспекции, а также в лабораториях контроля состава сточных вод промышленных предприятий и автоматических станциях контроля состава сточных вод, а годовой экономический эффект от его использования составляет 25,0 тыс.руб.





Редактор А. Черных	Составитель С. Филиппова Техред А. Ач	Корректор А. Дзятко
Заказ 11347/2	Тираж 729	Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета СССР по делам изобретений и открытий 113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5		
Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4		