

Областной конкурс юных исследователей окружающей среды
«Открытия 2030»

НОМИНАЦИЯ «ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ»

**Исследование возможности использования
ультрафиолетовых светодиодных лент
для обеззараживания воды**

Выполнила: Крошкина Виктория
Андреевна, обучающаяся 10 класса
МБОУ г. Кольчугино «Средняя
школа № 7»

Руководитель: Циклов Сергей
Борисович, учитель биологии
МБОУ г. Кольчугино
«Средняя школа № 7»

Кольчугино 2020

Содержание

Введение	2
1. Воздействие ультрафиолетового излучения на живые организмы.....	4
2. Методика исследований	6
2.1. Выбор методики оценки жизнеспособности дрожжей.....	6
2.2. Приготовление культуры дрожжей для изучения.....	6
2.3. Приготовление микропрепарата, подсчет живых и мертвых клеток.....	6
3. Эксперимент	8
Заключение.....	10
Литература.....	11

Введение

Проблема очистки воды на этапах водоподготовки и водоотведения была и остается одной из самых острых в условиях возрастающего воздействия человека на природные водные системы.

В настоящее время используются различные технологии очистки воды от вредных микроорганизмов. Долгое время практически единственным способом обеззараживания воды являлось хлорирование. Технологическая простота процесса хлорирования и его эффективность обусловили широкое распространение этого метода обеззараживания. Однако, как показали исследования, хлорирование может привести к образованию в воде нежелательных хлорорганических соединений, обладающих высокой токсичностью и канцерогенностью.

Наиболее технически сложный и дорогостоящий метод озонирования также характеризуется высокой эффективностью, но в отличие от хлорирования даёт гораздо меньше побочных продуктов. Однако и среди них могут быть токсичные – альдегиды, кетоны и другие ароматические соединения.

Использование ультрафиолетового излучения для очистки воды не меняет её физико-химические и органолептические свойства даже при дозах, намного превышающих практически необходимые. При этом эффективность этого метода не уступает остальным. Показано, что ультрафиолет обладает высокой эффективностью обеззараживания в отношении широкого спектра микроорганизмов, в том числе устойчивых к хлорированию микроорганизмов, таких как вирусы и цисты простейших, при реальных для практики дозах. УФ установки компактны и просты в эксплуатации, не требуют специальных мер безопасности.

Основными промышленно применяемыми источниками УФ излучения являются ртутные лампы высокого давления и ртутные лампы низкого давления, в том числе их новое поколение – амальгамные.

Лампы высокого давления обладают высокой единичной мощностью (несколько кВт), но более низким КПД (9–12%) и меньшим ресурсом, чем лампы низкого давления (КПД 40%), единичная мощность которых составляет десятки и сотни ватт.

УФ системы на амальгамных лампах чуть менее компактны, но гораздо более энергоэффективны, чем системы на лампах высокого давления.

Поэтому требуемое количество УФ оборудования, а также тип и количество используемых в нем УФ ламп, зависит не только от требуемой дозы УФ облучения, расхода и физико-химических показателей качества обрабатываемой среды, но и от условий размещения и эксплуатации.

Однако при всей эффективности УФ-обеззараживания воды у данной технологии есть недостаток. Используемые в качестве источника УФ лампы обладают относительно коротким сроком службы, часто перегорают, требуют специальной утилизации и характеризуются высокой стоимостью, что в совокупности увеличивает текущие затраты на эксплуатацию. Снижение себестоимости процесса – важнейший принцип продвижения любой технологии.

В настоящее время рынок стремительно захватывают светодиоды, среди которых есть и ультрафиолетовые, которые характеризуются большим сроком службы и низкой стоимостью.

Цель данной работы – выяснить возможности применения УФ светодиодов для очистки воды. Поскольку принцип воздействия УФ-лучей на различные организмы одинаков (см. раздел Теория), то в качестве объекта исследования были выбраны пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*). Выбор объекта обусловлен: 1) простотой получения культуры дрожжей, 2) размерами дрожжевых клеток, позволяющими легко наблюдать их в обычный школьный микроскоп, 3) наличием доступной методики оценки жизнеспособности дрожжевой культуры.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие задачи:

- 1) освоить методику приготовления культуры дрожжей;
- 2) освоить методику оценки жизнеспособности культуры дрожжей методом окрашивания метиленовым синим;
- 3) провести опыты по изучению влияния УФ светодиодов на состояние культуры дрожжей;
- 4) произвести количественную оценку полученных результатов;
- 5) сделать выводы.

1. Воздействие ультрафиолетового излучения на живые организмы

Ультрафиолетовое излучение – электромагнитное излучение, занимающее спектральный диапазон между видимым и рентгеновским излучениями. Различают длинноволновое (область УФ-А – длина волны составляет от 320 до 400 нм), средневолновое (область УФ-В – длина волны равна 275-320 нм) и коротковолновое (область УФ-С – длина волны находится в пределах от 180 до 275 нм) ультрафиолетовое излучение.

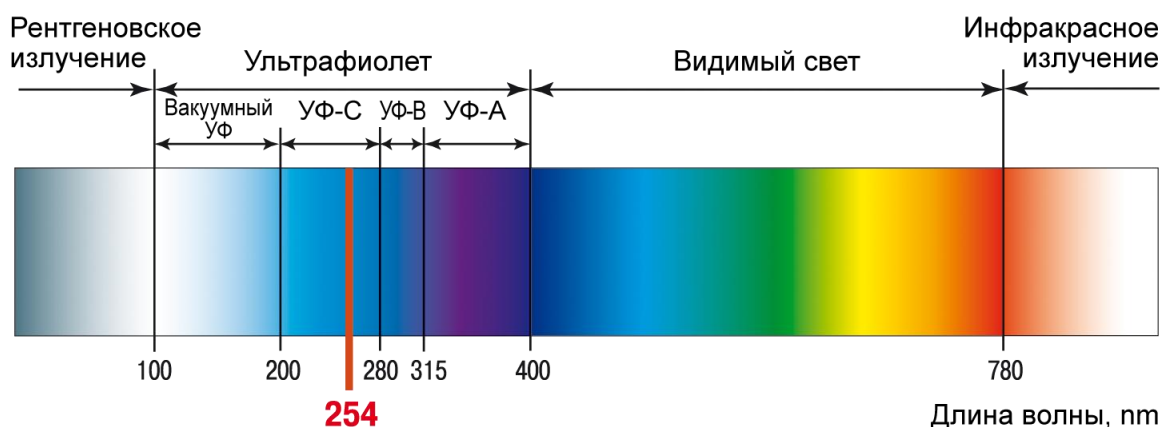


Рис. 1. УФ излучение в общем спектре. Красной линией отмечена длина волны излучения, обладающая наибольшим обеззараживающим эффектом

При действии на живые организмы УФ-излучение поглощается верхними слоями тканей растений или кожи человека и животных. Малые дозы УФ-излучения оказывают благотворное действие на организм человека и животных – способствуют образованию витаминов группы D, улучшают иммунологические свойства организма. Характерной реакцией кожи на УФ-излучение является специфическое покраснение – эритема, которая обычно переходит в защитную пигментацию (загар). Большие дозы УФ – излучения могут вызывать повреждения глаз (фотоофтальмию) и ожог кожи.

В растениях УФ-излучение изменяет активность ферментов и гормонов, влияет на синтез пигментов, интенсивность фотосинтеза и фотопериодической реакции. Большие дозы УФ-излучения неблагоприятны для растений, о чём свидетельствуют и существующие у них защитные приспособления (например, накопление определённых пигментов, клеточные механизмы восстановления от повреждений).

Негативный эффект воздействия УФ-излучения на клетки связан с химическими изменениями в молекуле ДНК: входящие в её состав пиримидиновые основания (главным образом тимин) при поглощении квантов УФ-излучения образуют димеры, препятствующие нормальному удвоению ДНК при подготовке клетки к делению. Это может приводить к гибели клеток или нарушению процесса репликации и возникновению различных мутаций. При этом наиболее сильное воздействие оказывают УФ-лучи с короткой длиной волны, обладающие наибольшей энергией.

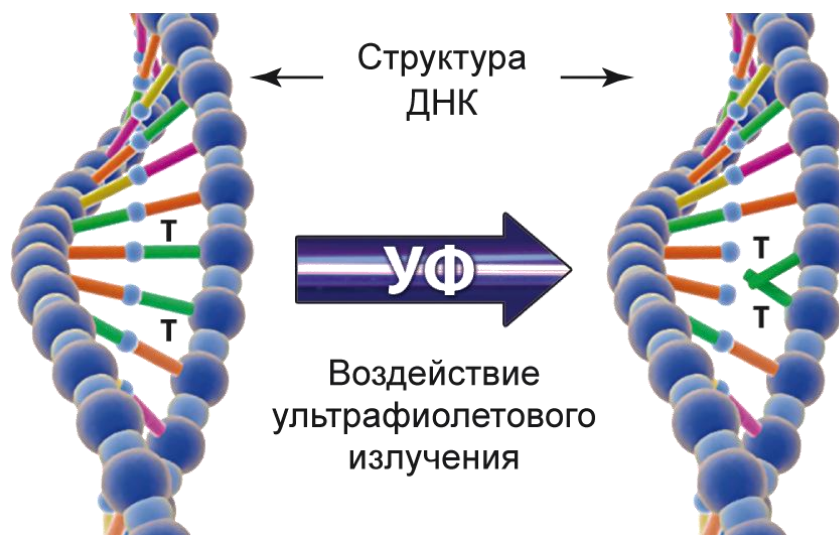


Рис. 2. Схема образования димера тимина в молекуле ДНК под действием УФ излучения

Губительное воздействие УФ на микроорганизмы довольно давно используется для обеззараживания и дезинфекции лабораторных помещений, больничных палат и т.п. В последнее время УФ-излучение всё шире применяется не только для обеззараживания воздуха и поверхностей, но и для очистки воды, причем как в системах водоподготовки, так и в системах водоотведения.

2. Методика исследований

2.1. Выбор методики оценки жизнеспособности дрожжей

Для определения количества мертвых клеток был выбран один из самых распространенных методов, основанный на окрашивании клеток с помощью красителя метиленового синего. Окрашивание клеток зависит от активности ферментов оксидоредуктаз. В живых клетках попавший в цитоплазму краситель восстанавливается редуктазами до бесцветных соединений, поэтому живые клетки на микропрепарате выглядят неокрашенными, в то время как мертвые клетки четко окрашиваются в синий цвет.

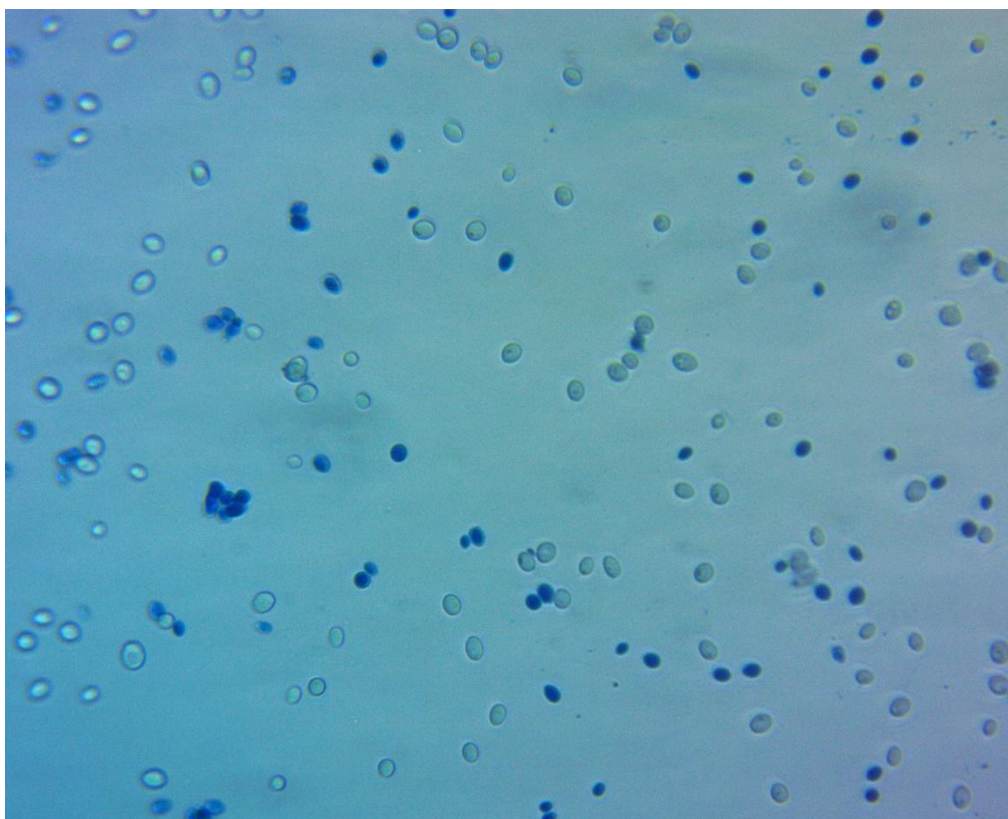


Рис. 3. Окрашивание клеток дрожжей метиленовым синим.
Окрашенные клетки – мертвые, бесцветные – живые.

2.2. Приготовление культуры дрожжей для изучения

Для приготовления исследуемой культуры 25 г прессованных дрожжей развели в 1 л теплой воды, затем разлили поровну в две трехлитровых банки и долили их подслащенной водой до полного объема. Поставили в теплое место на один час.

2.3. Приготовление микропрепарата, подсчет живых и мертвых клеток

Подсчет живых и мертвых дрожжевых клеток осуществлялся на микропрепаратах, приготовленных методом «раздавленной капли». В каплю исследуемой жидкости на стекле добавляли небольшое количество метиленовой си-

ни (до голубого окрашивания) и смесь тщательно размешивали. Приготовленный микропрепарат рассматривали с объективом $\times 40$. При таком увеличении хорошо видны живые прозрачные овальные или круглые клетки дрожжей. Мертвые клетки, как правило, более мелкие по сравнению с живыми и окрашены в синий цвет. Для улучшения освещения использовался свет от фонаря, направленный на зеркало микроскопа.

Для удобства и точности подсчета использовался видеоокуляр TourCam 14Mr. Изображение выводилось на монитор, фиксировалось в отдельный файл. Такой подход позволил получить большее число проб с небольшим временным интервалом наблюдения.

В пяти полях зрения отдельно подсчитывали количество мертвых и живых клеток, процент мертвых клеток вычисляли по отношению ко всему количеству клеток. Материнскую клетку с неотделившейся почкой принимали за одну клетку.

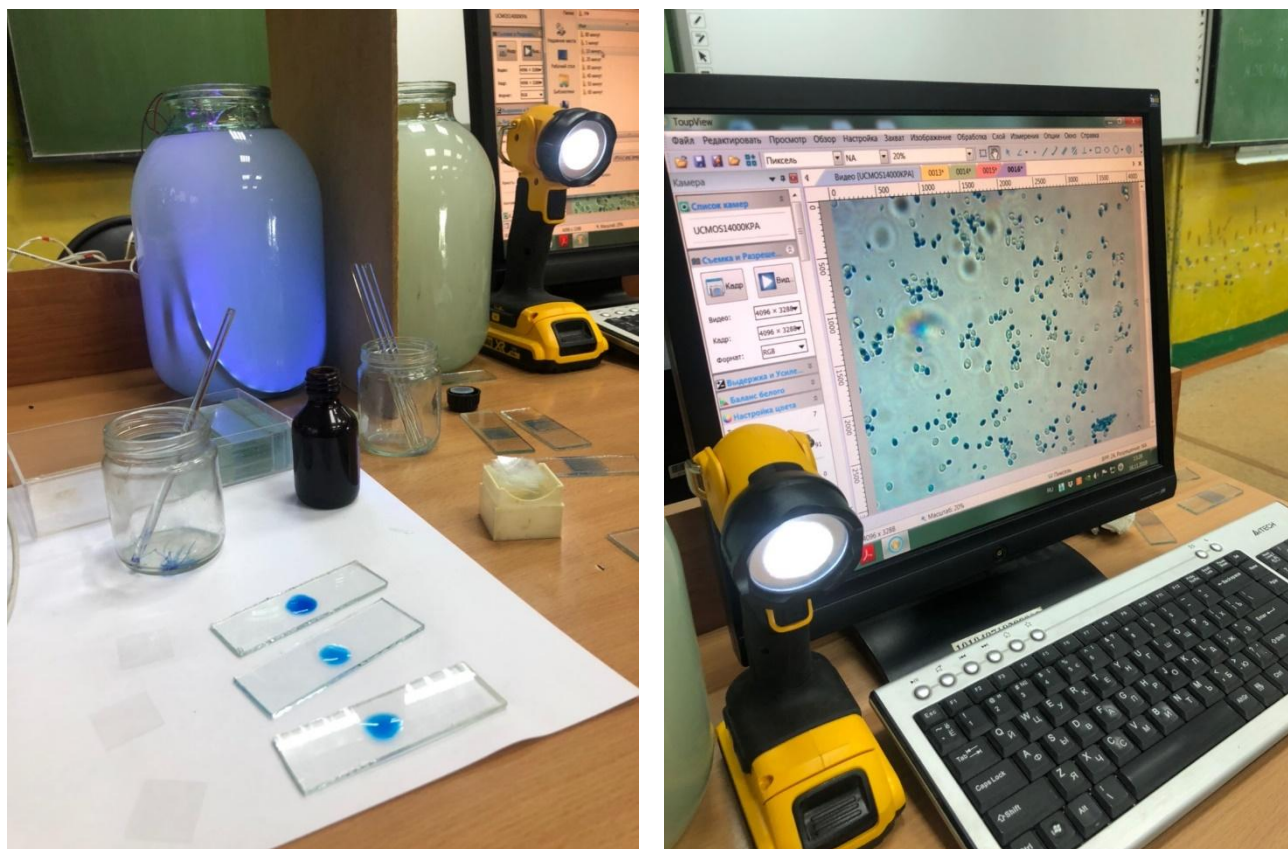


Рис. 4. Исследование окрашенных микропрепаратов дрожжей и фиксирование результатов путем сохранения изображений.

3. Эксперимент

Исходя из предположения, что УФ светодиодная лента обладает нужным эффектом, был проведен следующий эксперимент. Из разлитой в два сосуда культуры дрожжей (см. Пункт 2.2) были взяты и изучены с помощью микроскопа нулевые (стартовые) пробы. В каждой пробе был подсчитано количество живых и мертвых клеток, а также процент мертвых клеток. Затем в один сосуд была опущена указанная УФ светодиодная лента. После включения источника УФ из данной культуры каждые десять минут отбиралась проба, готовился микропрепарат, с помощью видеоокуляра препарат визуализировался на экране монитора и сохранялся в формате jpeg для дальнейшего подсчета живых и мертвых клеток и определения процента погибших.



Рис. 5. Исследование воздействия УФ излучения от светодиодной ленты на клетки дрожжей

Результаты эксперимента приводятся в таблице.

Табл. 1. Результаты исследования воздействия УФ светодиодной ленты на клетки дрожжей (в процентах от общего числа учтенных клеток)

		Время экспозиции, мин.						
		0	10	20	30	40	50	60
Процент погибших клеток	УФ	28	33	36	29	37	38	44
	Контроль		-	-	26	-	-	36

Результаты эксперимента показали, что процент погибших клеток в культуре, подвергнутой воздействию УФ от светодиодной ленты, и в контрольной культуре мало отличаются. На основании полученных результатов были сделаны следующие предположения: 1) ультрафиолет не действует на дрожжевые клетки в водной культуре или 2) выбранная для эксперимента светодиодная лента не является источником ультрафиолета или является таковым, но в диапазоне, не оказывающем существенное влияние на клетки. Для проверки новых гипотез был проведен новый эксперимент.

2. Новую культуру дрожжей разлили в два сосуда. В один поместили указанную ранее светодиодную ленту, а над вторым разместили ртутную ультрафиолетовую лампу низкого давления. Далее провели эксперимент по той же схеме, что и предыдущий.

Табл. 2. Результаты исследования воздействия УФ от разных источников на клетки дрожжей (в процентах от общего числа учтенных клеток)

		Время экспозиции						
		0	10	20	30	40	50	60
Источник УФ	Светодиодная лента	27	26	23	30	-	-	-
	Ртутная лампа		45	81	100	-	-	-
Контроль			29	-	31	-	-	-

Результаты эксперимента показали, что при использовании в качестве источника УФ ртутной лампы большая часть клеток дрожжей погибает уже в первые 30 минут эксперимента, в то время как при использовании светодиодной ленты процент погибших дрожжевых клеток изменяется незначительно.

Заключение

На основании проведенных экспериментов можно сделать следующие выводы:

1. Ультрафиолетовое излучение губительно действует на клетки дрожжей. Данный эффект легко проверить, используя для оценки состояния клеток краситель метиленовый синий.
2. Первоначально выбранный для исследований источник ультрафиолетового излучения – светодиодная лента – не оказал сколько-нибудь заметного воздействия на клетки дрожжей.
3. Следующий эксперимент доказал, что причиной отсутствия эффекта воздействия является не устойчивость дрожжей к ультрафиолету, а неэффективность самой светодиодной ленты. На это указывает высокий процент смертности дрожжевых клеток под действием УФ от ртутной лампы.
4. Используемые в эксперименте светодиодные ленты не могут применяться в качестве средства для обеззараживания воды. Причиной неэффективности светодиодной ленты может служить наличие более длинноволнового излучения УВ-А и фиолетовой части спектра.

На основании проведенных исследований можно рекомендовать при выборе источника УФ-излучения для обеззараживания воды предварительно изучать заявленные физические характеристики изделия, а именно выдаваемый спектр излучения, а при отсутствии таковых проводить предварительные исследования подобные описанным выше.

Литература

1. <http://www.berl.ru/article/micro/Methylene-blue-and-other-dyes-in-microscopy>
2. <http://microbak.ru/obshhaya-xarakteristika-mikrobov/gribi/drozhzhi.html>
3. <https://watera.ru/information/treatment/ultrafioletovoe-obezzarazhivanie-vody/>
4. <https://lampaexpert.ru/vidy-i-tipy-lamp/kvartsevye-i-ultrafioletovye/dla-dezinfekcii-pomesenij>
5. <https://www.lit-uv.com/ru/technology/>