

**УДК 681.518.5**

В.Г. ПЕТРУК, д.т.н., професор, **С.М. КВАТЕРНЮК**, науковий співробітник, **О.Є. КВАТЕРНЮК**, викладач
Вінницький гуманітарно-педагогічний коледж, м. Вінниця, Україна
А.П. ІВАНОВ, д.т.н., професор, **В.В. БАРУН**, науковий співробітник
Інститут фізики НАН Білорусі, м. Мінськ, Білорусь

КОНТРОЛЬ СТАНУ ВОДНИХ ОБ'ЄКТІВ ЯК ПОЛІДИСПЕРСНИХ СЕРЕДОВИЩ НА ОСНОВІ МЕТОДУ СПЕКТРОПОЛЯРИМЕТРИЧНИХ ЗОБРАЖЕНЬ

Запропоновано метод та структурну схему засобу контролю стану водних об'єктів як полідисперсних біологічних середовищ на основі методу спектрополяриметричних зображень частинок фітопланктону. Клас якості води визначено за методом Зелінки-Марвана, виходячи з сапробної валентності та індикаторної ваги різних видів фітопланктону, що дозволило об'єктивно оцінювати комплексний антропогенний вплив на екосистему водних об'єктів.

водні об'єкти, екологічний контроль, фітопланктон, полідисперсні середовища

Контроль екологічного стану та охорона біорізноманіття природних екосистем займають нині важливе місце в загальній системі охорони природи і є важливими компонентами вирішення проблеми сталого розвитку суспільства. Проте на даний час теоретичні та практичні аспекти автоматизованого контролю стану екосистем розвинуті недостатньо, оскільки інтегральні показники, за якими оцінюється стан екосистем, значною мірою є відносними і суб'єктивними. У даній роботі запропоновано єдиний підхід до контролю стану полідисперсних біологічних рідин (ПБР), які є складовою частиною великої кількості об'єктів природного походження, що входять до складу екосистем. Зокрема це стосується екологічного контролю стану природних водних об'єктів. Всі такі середовища є складними полідисперсними системами, що включають дисперсні частинки різних типів, розмірів і форми, а також колоїдні та істинні розчини, які знаходяться у складній взаємодії. Частинки ПБР переважно є біологічними клітинами та їх агломератами. Аналіз стану ПБР дозволяє отримати об'ємні концентрації та кількісні співвідношення між частинками певних типів, що є індикатором стану природних екологічних систем, зокрема оцінки індексів біорізноманіття, екологічного балансу, біоіндикатором антропогенного впливу та різноманітних забруднень природного середовища тощо. Оптико-фізичні параметри полідисперсних біологічних рідин можуть виходити за встановлені межі допустимих інтервалів відхилення, що зумовлено типом, формою, орієнтацією, спектральними та поляризаційними властивостями завислих у них частинок. Результати теоретичних досліджень та практичної реалізації дозволяють вивчити особливості

оптико-фізичних характеристик ПБР та їх частинок, що надає можливість створити ефективні засоби автоматизованого контролю їх стану.

Існує ряд експериментальних методів контролю стану ПБР, серед яких – кондуктометричний метод, який заснований на вимірюванні електричного опору окремих частинок у проточних приладах за допомогою комірки Култера. Даний метод є недостатньо чутливим для ідентифікації частинок різних типів з високою вірогідністю. Найбільш поширеним лабораторним методом дослідження ПБР є фотометричний метод, за допомогою якого можлива кількісна оцінка середніх параметрів частинок фітопланктону, однак неможливий аналіз властивості окремих частинок. Для дослідження ПБР широко використовується скануюча проточна цитометрія (СПЦ) [1], особливістю якої є дослідження частинок у тонкому потоці, що створений гідрофокусуною головкою. СПЦ дозволяє визначати розмір і показник заломлення одиночних часток у реальному часі без використання процедури калібрування. Основною перевагою такої технології аналізу одиночних часток є висока швидкість і універсальність технології, а недоліком – спотворення частинок фітопланктону складної форми під час їх руху. Для дослідження частинок ПБР широко застосовують методи автоматизованої мікроскопії з обробкою зображень частинок ПБР, визначенням їх геометричних параметрів та ідентифікації за допомогою нейропроцесора [2]. Флуоресцентні методи дозволяють швидко і достовірно розділяти і підраховувати будь-які підтипи будь-яких типів відомих фахівцям частинок ПБР. Однак, використання флуоресцентних міток, що реагують на певні види макро-

молекул на поверхні частинок, у ряді випадків підвищує вартість діагностики.

Контроль стану природних водно-дисперсних середовищ можливо здійснювати на основі індексів біоіндикації за їх фітопланктоном. Функціональна роль фітопланктону у екосистемі – первинна ланка перетворення потоку сонячної енергії, продуцент автохтонної органічної речовини, важливий агент самоочищення і фотосинтетичної аерації води. Фітопланктон є одним із біологічних елементів класифікації екологічного статусу водних об'єктів відповідно до Водної Рамкової Директиви ЄС 2000/60 [3]. Об'єктом контролю у даній роботі є піко- та нанопланктон з розміром частинок до 50 мкм. Фітопланктонні водорості переважно одноклітинні, хоча серед них є багато колоніальних та нитчастих форм, особливо у прісноводних водоймах. Зображення частинок фітопланктону прісноводних водойм наведено на рис. 1. У кожній конкретній водоймі характер поля об'ємної концентрації фітопланктону визначається фізико-хімічними та біолого-ценотичними умовами. Дані про вміст фітопланктону у водних об'єктах мають значні його просторові та часові варіації. Відповідно будують характеристики об'ємних концентрацій та відносного співвідношення різних видів фітопланктону залежно від часу в масштабі сезонних річних змін, а також від глибини водойми, її поперечного перетину та вздовж всієї протяжності водного об'єкту.

Відбір зразків фітопланктону проводився у водних об'єктах м. Вінниці з використанням фільтраційного та відстійного методів за допомогою сітки Апштейна і мембранних фільтрів з діаметром пор 2 мкм. Особливості збору та опрацювання матеріалу відповідали загальноприйнятим підходам вивчення водоростей. Ідентифікація видового складу водоростей проводилась з використанням основних систематичних зведень вітчизняних та зарубіжних авторів. Дослідження зразків фітопланктону здійснювалось *in vitro* як у живому, так і фіксованому стані.

Морфологічні характеристики частинок ПБР відрізняються широкою варіабельністю розмірів та форм. З погляду оптики, ці частинки є тривимірним розподілом речовини зі змінною оптичною щільністю. У видимій області

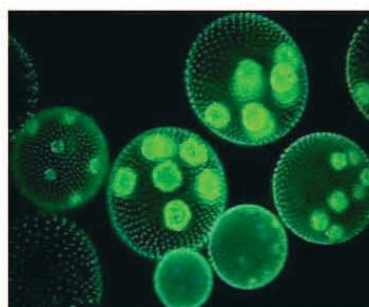
світла можливе як мале поглинання, так і досить велике – на характеристичних довжинах хвиль різноманітних біохімічних сполук та пігментів. Для випадку частинок зі складною внутрішньою структурою окремо визначається вплив на світлорозсіювання всіх видів неоднорідних включень. Аналіз поширення і розсіювання випромінювання у ПБР зводиться до розгляду характеристик розсіювання і поглинання окремих частинок з подальшим врахуванням концентраційних ефектів і полідисперсності суспензії [4].

Моделювання поширення випромінювання у ПБР та формування спектрополяриметричних зображень частинок фітопланктону проведено за допомогою методу Монте-Карло та гібридної апроксимації, результати моделювання наведено на рис. 2. На основі розрахованих амплітуд та фаз s- і p- поляризаційних компонент зображення обчислюють параметри Стокса та елементи матриці Мюллера у кожній точці зображення. Біохімічні сполуки біологічних рідин мають оптичну активність, яка обумовлена асиметрією їх складних молекул. Знак обертання площини поляризації не залежить від напрямку поширення світла, а визначається лише структурою речовини. Оптична активність таких речовин суттєво залежить як від їх температури, так і від довжини хвилі. Порівнюючи виміряні на характеристичних довжинах хвиль спектрополяриметричні зображення для право- та лівоциркулярнополяризованого випромінювання, можна дійти висновку про наявність чи відсутність певних оптично активних речовин, а також їх концентрацію у частинках ПБР.

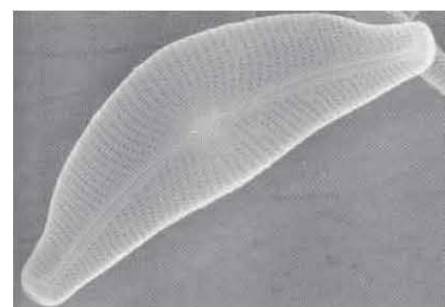
Загальну структурну схему засобу автоматизованого контролю стану водних об'єктів на основі спектрополяриметричних зображень частинок фітопланктону надано на рис. 3. Джерелом випромінювання (ДВ) є монохроматор, від якого сигнал проходить крізь волоконно-оптичний хвилевід (ВОХ) до поляриметричної системи. Далі випромінювання потрапляє на плівковий лінійний поляризатор (П) та компенсатор (К). Випромінювання проходить вимірювальну кювету (ВК) із зразком фітопланктону. При підготовці до експерименту кювета промивається дистильованою водою за допомогою промивального насоса (ПН).



Chroococcus (синьо-зелені водорості)



Volvox (зелені)



Cymbella tumida (діатомові)

Рисунок 1 – Зображення частинок фітопланктону прісноводних водойм

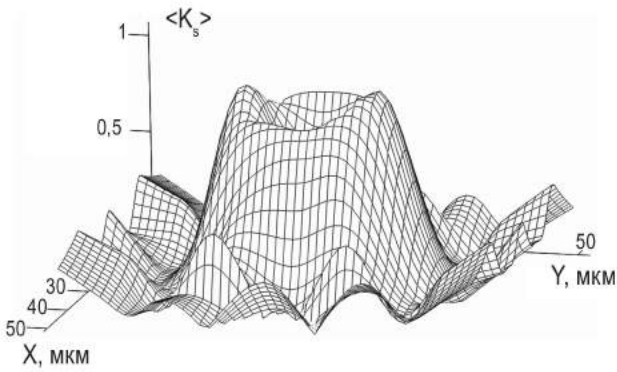


Рисунок 2 – Результати моделювання зображень частинок фітопланктону:

$\langle K_s \rangle$ – усереднена s-компонента випромінювання;
X та Y – координати в площині зображення

До вимірювальної кювети підключено цифровий сенсор температури (СТ), сигнали з якого подаються до мікроконтролера (М) і реєструються поряд з іншими даними експерименту. Блок керування кроковими двигунами (БККД) створює сигнали керування для двигунів, що підключені до монохроматора та поляризаційних елементів. При вимірюванні параметрів біологічних рідин термостатом (Т) підтримується задана стабільна температура.

Для отримання зображень, що відповідають елементам матриці Мюллера, необхідно здійснювати обертання як поляризатора (П), так і аналізатора (А). Збільшення спектрополяриметричних зображень частинок фітопланктону до необхідних розмірів здійснюється за допомогою оптичної системи мікроскопа та визначається добутком коефіцієнтів збільшення об'єктива (ОБ) та окуляра (ОК). Сформоване зображення через окуляр мікроскопа потрапляє на ПЗЗ-камеру. Далі зображення обробляється у комп'ютері за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення [7, 8]. Морфологічний аналіз зображення полягає у дослідженні форм окремих частинок і складається з таких операцій:

- структуризація зображення шляхом порівняння з шаблоном структуроутворюючого елемента заданої форми та розмірів;
- виділення контурів, які розділяють частинки, що поєднані у агломерати;
- бінаризація – перетворення напівтонового зображення у чорно-біле;
- сегментація – формування сегментів зображення, що відповідають окремим частинкам.

Для ідентифікації частинок фітопланктону здійснюється порівняння масивів спектрополяриметричних зображень, які отримані на характеристичних довжинах хвиль пігментів фітопланктону (рис. 4), зі зразковими мультиспектральними зображеннями за допомогою класифікатора Байєса з розв'язувальною функцією на основі відстані Махаланобіса. За рахунок цього підвищується точність ідентифікації частинок фітопланктону порівняно з класичними альгологічними методами, що засновані на візуальному порівнянні зображень частинок фітопланктону, які отримані за допомогою мікроскопу, зі знятими з визначників та кадастрів зразковими зображеннями [5]; швидкодія контролю екологічного стану водних об'єктів підвищується у 10–20 разів. Основним пігментом, який присутній у частинках фітопланктону, є хлорофіл *a* (характеристичні довжини хвиль – 430 нм, 663 нм – рис. 4, лінія В). Зелені водорості містять хлорофіл *b* (435 нм, 645 нм – рис. 4, лінія Г), діатомові та динофітові водорості – хлорофіл *c* (440 нм, 583 нм, 634 нм), у червоних водоростях – хлорофіл *d*. Окрім хлорофілів, у хлоропластах завжди наявні каротиноїди (рис. 4, лінія Д), вміст яких оцінюється за еквівалентом β -каротину (480 нм). Синьо-зелені та червоні водорості містять два типи фікобілінів (фікоціанін – рис. 4, лінія А і фікоеретрин – рис. 4, лінія Б) у різних співвідношеннях. Запропонований метод технічно більш складний, ніж існуючі методи непрямої інтегральної оцінки фітопланктонних угруповань за пігментними характеристиками,

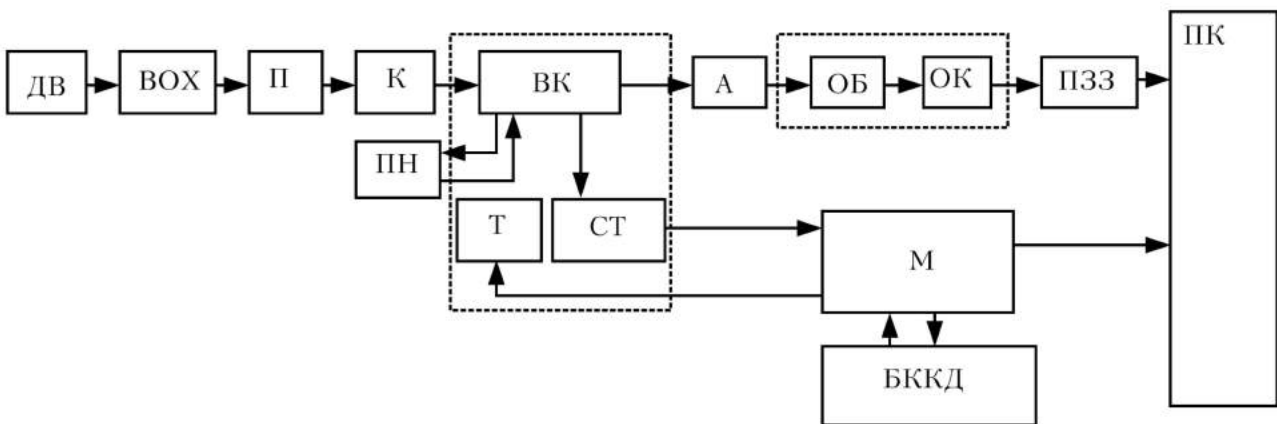


Рисунок 3 – Структурна схема засобу контролю стану водних об'єктів

але дозволяє більш точно визначити співвідношення між певними видами фітопланктону.

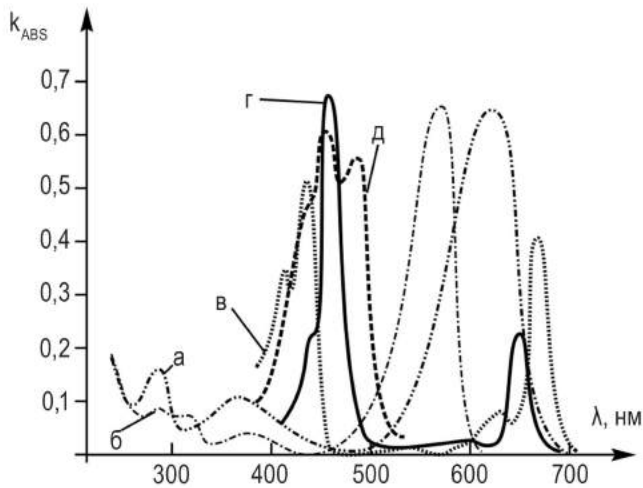


Рисунок 4 – Спектральні залежності відносних показників поглинання пігментів фітопланктону k_{ABS} від довжини хвилі λ

Аналіз зразків фітопланктону за допомогою запропонованого методу та розроблених засобів контролю показав, що видове різноманіття альгофлори водойм представлено 248 видами. Провідною групою альгофлори є зелені водорості, які представлені 116 видами. Високим різноманіттям характеризуються також діатомові (51 вид), евгленові (31 вид) та синьо-зелені (26 видів) водорості. Проведений аналіз довів, що у зразках фітопланктону, які взяті з річки вище міста за течією, видове різноманіття значно вище, ніж на ділянці річки у центральній частині міста – що є доказом вагомого антропогенного впливу на екологічний стан річкової екосистеми. Виявлено ряд видів водоростей-індикаторів якості води, які засвідчують належність досліджених водойм у переважній більшості до бета-мезосапробного типу. Факторами деградації біорізноманіття виступає антропогенне евтрофування, яке зумовлене забрудненням водойм стічними водами різного типу, а також надмірне заростання стоячих водойм і масовий розвиток синьо-зелених водоростей, які викликають «цвітіння» води. Ці види заслуговують на посилену увагу, оскільки вони є потенційними продуцентами токсичних речовин – вони зростають за умов надмірного забруднення і привертають увагу до незадовільного екологічного стану конкретних водойм [5].

На основі результатів досліджень виявлені сезонні коливання зміни співвідношень між різними групами фітопланктону досліджених водойм у межах норми, що зумовлені природними факторами – змінами температури, сонячної освітленості, об'ємною концентрацією та хіміч-

ним складом речовин, що потрапляють у водойми з опадами та стоками (рис. 5).

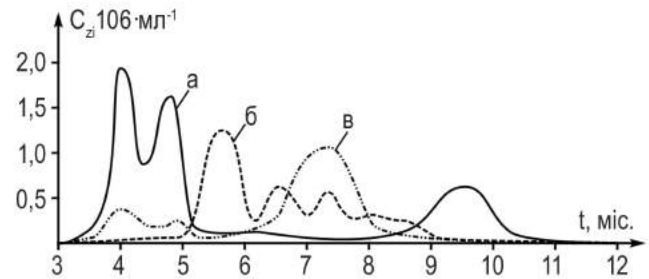


Рисунок 5 – Сезонні зміни співвідношень об'ємних концентрацій C_{zi} між різними групами фітопланктону: а – діатомові, б – зелені, в – синьо-зелені водорості

Навесні та восени домінують розвиток діатомових водоростей, на початку літа проходить хвиля розвитку зелених водоростей, а у другій половині літа – синьо-зелених, розвиток яких призводить, зокрема, до явища «цвітіння» води та утворення токсичних речовин при відмиранні таких водоростей.

У зв'язку з вищезазначеним доцільно використати індекси біоіндикації для оцінки антропогенного впливу. Ступінь індикаторності видів встановлюється з використанням зведених таблиць та атласів сапробних організмів і монографічних опрацювань конкретної групи фітогидробионтів чи таксономічної групи взагалі.

Оцінку якості води на основі результатів біоіндикації по фітопланктону проведемо таким методом. Індекс забруднення навколишнього середовища розроблений на основі методу Зелінки-Марвана [6]

$$S_{EPI} = \frac{\sum_{i=1}^N s_i h_i J_i}{\sum_{i=1}^N h_i J_i} \quad (1)$$

де N – число видів фітопланктону, що є біоіндикаторами; h_i – абсолютна чисельність у пробі i -того виду; s_i, J_i – сапробна валентність та індикаторна вага i -того виду взяті з довідникових таблиць для видів-біоіндикаторів [6].

Індекс забруднення визначає клас та категорію якості води, а також дозволяє оцінювати трофічний рівень за відповідними шкалами для водних об'єктів [9].

ВИСНОВКИ

Запропонований метод та засіб контролю дозволяють об'єктивно та достовірно оцінювати стан водних об'єктів на основі біоіндикації по фітопланктону, а також є більш адекватним для оцінки комплексного антропогенного впливу на екосистему. Оцінка якості дослі-



джуваних зразків води на основі індексів біоіндикації по фітопланктону була отримана на рівні $S_{\text{EPI}} = 2,6..2,9$, що дозволяє оцінити клас якості води – III, категорію якості води – «помірно забруднена», трофічний рівень – мезотрофічний. Порівняння результатів оцінки якості води по індексам біоіндикації та результатам хімічних аналізів (рівень нітритів, ортофосфатів, неорганічного фосфору) показав високу достовірність результатів контролю. Дослідження виконувались у рамках міжнародного українсько-білоруського проекту кафедри екології та екологічної безпеки Вінницького національного технічного університету та лабораторії оптики світлорозсіювальних середовищ Інституту фізики ім. Б.І. Степанова Національної академії наук Білорусі.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. **Мальцев, В.П.** Сканирующая проточная цитометрия: автореф. дис. на соиск. учен. степ. д-ра физ.-мат. наук : спец. 01.04.05 «Оптика» / Мальцев Валерий Павлович; Институт химической кинетики и горения СО РАН. – Новосибирск, 2000. – 30 с.
2. **Єльнікова, Т.О.** Автоматизована система для вимірювання геометричних параметрів фітопланктону / Т.О. Єльнікова // Вісник ЖДТУ. – 2009. – № 1. – С. 160–164.
3. Водна Рамкова Директива ЄС 2000/60/ЄС. Основні терміни та їх визначення. – К.: 2006. – 244 с.
4. **Лопатин, В.Н.** Введение в оптику взвесей клеток / В.Н. Лопатин, Ф.Я. Сидько. – Новосибирск: Наука, 1988. – 240 с.
5. **Царенко, П.М.** Кадастр водоростей водойм міста Вінниці / П.М. Царенко, П.Д. Ключенко, О.П. Царенко, Є.І. Ворона. – Вінниця: 2006. – 81 с.
6. **Барінова, С.С.** Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды / С.С. Барінова, Л.А. Медведева, О.В. Анисимова. – Тель-Авив : PiliesStudio, 2006. – 498 с.
7. Петрук, В.Г. Спектрополяриметричні методи та засоби дослідження параметрів гуморальних середовищ / В.Г. Петрук, С.М. Кватернюк, І.В. Васильківський та ін. // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології. – 2009. – № 1 (17). – С. 128–131.
8. **Петрук, В.Г.** Неінвазійний спектрополяриметр зображень для дослідження біотканин та гуморальних середовищ / В.Г. Петрук, С.М. Кватернюк, І.В. Васильківський та ін. // Вісник ВПІ. – 2009. – № 5. – С. 15–19.

Поступила в редакцію 26.01.10

Предложены методы и структурная схема средства контроля состояния водных объектов как полидисперсных биологических сред на основе метода спектрополяриметрических изображений частиц фитопланктона. Класс качества воды определен по методу Зелинки-Марвана, исходя из сапробной валентности и индикаторного веса различных видов фитопланктона, что позволило объективно оценивать комплексное антропогенное влияние на экосистему водных объектов.

Method and block diagram of the device to control the state of aquatic environments, as polydispersed biological media based on the method of spectral polarimetric images of phytoplankton particles are proposed. Class of water quality was determined by the method of Zelinka-Marvan based on the saprobity valence and the indicator of different types of phytoplankton that provides objective assessment of complex anthropogenic impact on the ecosystem of aquatic environments.