

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТОКСИЧНОСТИ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО И ПРОФЛАВИНА ДЛЯ САПРОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ВОДЫ

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE TOXICITY OF METHYLENE BLUE AND PROFLAVINE FOR SAPROPHYTIC BACTERIA AND PHOTODYNAMIC-DECONTAMINATION OF WATER

V. Purtskhvanidze
Y. Simakov
N. Batkayeva

Summary. A comparative analysis of the toxicity of aqueous solutions of methylene blue and proflavine photodynamic treatment with fluorescent lamps, with 3 thousand Lux. such biological indicators of saprophytic bacteria as BOD₅ and the increase in the number of bacteria. It is shown that methylene blue at lower concentrations than proflavine exhibits phototoxicity to saprophytic bacteria in the water from a natural body of water (allowable concentration for methylene blue on such indicators as the change in BOD₅ and growth of bacteria in ml of pond water were the same. 0.01 mg/l, and PF, respectively, 0.05 and 0.1 mg/l). From the point of view of phototoxicity of substances for disinfection of water in large volumes is economically advantageous to use methylene blue.

Keywords: methylene blue, proflavine, phototoxicity, BOD₅, growth of bacteria, photodynamic-decontamination of water.

Пурцхванидзе Виолетта Александровна

К.б.н., главный врач медицинского центра высоких технологий «Лазервита», г. Москва

Симаков Юрий Георгиевич

Д.б.н., профессор, Московский государственный университет технологий и управления им. К. Г. Разумовского, г. Москва

usimakov@yandex.ru

Баткаева Надежда Владимировна

Научный сотрудник, РУДН, г. Москва

Аннотация. Проведен сравнительный анализ токсичности водных растворов метиленового синего и профлавина при фотодинамическом воздействии лампами дневного света при 3 тыс. лк. на такие биологические показатели сапрофитных бактерий как БПК₅ и прирост численности бактерий. Показано, что метиленовый синий при меньших концентрациях, чем профлавин проявляет фототоксичность для сапрофитных бактерий в воде из природного водоема (допустимая концентрация для метиленового синего по таким показателям как изменение БПК₅ и прирост бактерий в мл прудовой воды оказалось одинаковой. равной 0,01 мг/л, а для профлавина соответственно 0,05 и 0,1 мг/л). С точки зрения фототоксичности веществ для обеззараживания воды в больших объемах экономически выгоднее применять метиленовый синий.

Ключевые слова. Метиленовый синий, профлавин, фототоксичность, БПК₅, прирост бактерий, фотодинамическое обеззараживание воды.

Введение

Обеззараживания воды остается одной из важнейших проблем в экологии при охране окружающей среды и защите населения от биологического загрязнения. В настоящее время наблюдается всемирная тенденция, направленная на улучшение водоснабжения населения, характеризуются растущим пониманием необходимости бережного, рационального отношения к водным ресурсам, совершенствованием технологии очистки воды [1].

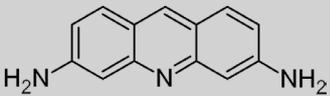
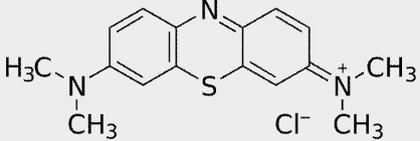
При фотодинамическом обеззараживании воды широкое применение нашли фотосенсибилизаторы относящиеся к азиновым красителям — метиленовый синий и профлавин. Выявлено, что указанные фотосенсибилизаторы обладают широким спектром воздействия и подавляют также развитие вирусов, цианобактерий и низших грибов [2–4]. Тенденция использования различных красителей, обладающих фотосенсибилизирующими свойствами, для обеззараживания воды продолжает развиваться и далее ускоренными темпами [5, 6]. Од-

нако в этом направлении есть еще много неизученных сторон, которые требуют своего неотложного решения.

Одной из таких сторон является анализ сравнительной эффективности обеззараживания воды различными соединениями, обладающими фотосенсибилизирующими свойствами. Именно такой сравнительный анализ фототоксичности двух соединений, метиленового синего и профлавина. проведен нами в данной работе. Оба вещества уже практически используются для обеззараживания воды, как в водоемах, так в аквариумистике. Для оценки эффективности воздействия каждого из фотосенсибилизаторов мы использовали сапрофитных бактерий в пробах воды из природных водоемов., а основными санитарными показателями, отвечающими за метаболизм и размножение бактерий, служили БПК₅ и динамика прироста численности гетеротрофных бактерий.

Цель работы — провести сравнительный анализ токсичности фотосенсибилизаторов — метиленового синего и профлавина для сапрофитных бактерий для

Таблица 1. Структурная формула исследуемых красителей

<p>Профлавин (диаминоакридин)</p>	
<p>Метиленовый синий (N, N, N', N'-тетраметилтионина хлорида тригидрат)</p>	

выявления наиболее перспективного соединения при фотодинамическом обеззараживании воды и установления пороговых значений, при которых проявляется фотодинамический эффект для бактерий.

1. Материалы и методы

Исследование проведено с двумя азиновыми красителями, обладающими фотосенсибилизирующим свойством: метиленовым синим и профлавином. Структурная формула указанных веществ представлена в таблице 1.

Для определения воздействия метиленового синего и профлавина на БПК₅ использовали воду из пресноводного подмосковного водоема, где численность сапрофитных бактерий, определенная посевом на МПА, составляла 1,4*10⁴ кл./мл. Растворы фотосенсибилизаторов для проведения опыта готовились в пластиковых 5-ти литровых бутылках. В каждую бутылку в качестве органической нагрузки вносился пептон (из такого расчета, чтобы на 5-й день БПК составила около 5 мгО₂/л). В опытные сосуды вносили исследуемое вещество не менее, чем в 5 концентрациях. Спектр исследуемых концентраций фотосенсибилизаторов подбирался исходя из литературных данных, о их действии на различные гидробионты [7, 8], с таким расчетом, чтобы исследуемые концентрации шли в сторону завышения и в сторону занижения от пороговой концентрации. Поскольку исследовалось действие фотосенсибилизаторов, бутылки с исследуемыми концентрациями находились при переменном освещении в люминостате при освещенности 3000 люкс с чередованием света и темноты через 12 часов. Один из сосудов служил контролем. В исходные сутки, а также по указанной ниже схеме, производился отбор проб в склянки (три повторности) для определения БПК до 5 суток в предварительном опыте и до седьмых суток включительно при проведении основного опыта. Для стандартизации условий проведения опыта склян-

ки с пробами для определения БПК ставились в темноту и находились в термостате при температуре 200 С. После экспозиции в каждом сосуде с пробой воды с помощью оксиметра («Экотест» с селективными электродами на О₂) определяли содержание кислорода.

Санитарно-экологические последствия присутствия в воде исследуемого вещества в различных концентрациях оценивали по его влиянию на БПК₅ воды. Для каждого из веществ был взят свой спектр концентраций, который определялся предварительно на основании литературных данных и острых опытов на дафниях.

БПК₅ рассчитывали, как разность между исходной концентрацией кислорода в воде ([O₂]_{исх}) и концентрацией кислорода на соответствующий срок наблюдения ([O₂]_t):

$$БПК_5 = [O_2]_{исх} - [O_2]_t$$

Оценка эффекта токсичного вещества производится по сравнению величин БПК₅ в опыте и в контрольном сосуде:

$$N = \frac{БПК_5(оп) - БПК_5(контр)}{БПК_5(контр)} \cdot 100\%$$

где БПК₅ (оп) и БПК₅ (контр) в опыте и в контроле, соответственно, на один и тот же срок.

В качестве недействующей концентрации принимали ту, при которой показатель БПК₅ отклонялся от соответствующих значений в контроле не более чем на 20% (т.е. N < 20%) [9].

Для вычисления концентрации, вызывающей 20%-ное отклонение, путем интерполяции использовал следующее уравнение:

Таблица 2.1. БПК₅ (мгО₂/л) при действии различных концентраций метиленового синего в предварительном опыте

Концентрации метиленового синего в мг/л	БПК ₅ в день опыта	% от контроля	БПК ₅ на 5 сутки опыта	% от контроля
1,0	3,3	62	2,6	160
0,5	3,5	66	3,7	231
0,1	3,8	71	4,2	262
0,05	4,2	79	3,8	237
0,01	5,0	94	1,7	106
Контроль	5,3	100	1.6	100

$$C = C_1 + \frac{20 - N_1}{N_2 - N_1} \cdot (C_2 - C_1),$$

где C — концентрация вещества, вызывающая отклонение значений БПК₅ от аналогичных значений в контроле на 20%; C_1 и C_2 — концентрации загрязняющего вещества, вызвавшие отклонения БПК₅ менее и более чем на 20% соответственно; N_1 и N_2 — величины этих отклонений.

1.2. Оценка влияния на рост сапрофитов

Для исследования динамики прироста гетеротрофных бактерий в растворах исследуемых красителей, использовали воду того же водоема, что и для определения БПК₅. Подсчет бактерий проводился в пробах взятых из тех же сосудов с различными концентрациями красителей, которые использовались при определении влияния фототоксикантов на БПК₅. Определение общего количества бактерий в различных вариантах опыта проводилось по ГОСТ 5216–50. Для этих целей определялось количество бактерий в 1 мл воды, способных расти на мясо-пептонном агаре. Подсчет колоний в чашках Петри проводили через 48 часов после посева. Сроки взятия проб воды для посевов на МПА соответствовали тем, которые указаны в «Методике по установлению рыбохозяйственных нормативов ПДК и ОБУВ [9].

Мясо-пептонный агар расплавляли в водяной бане, а затем охлаждали до 40°C. После этого стерильной пробиркой отбиралась соответствующая проба и вносилась в 2 стерильные чашки Петри, затем следовала заливка мясо-пептонным агаром при перемешивании исследуемой воды вращательным движением. После остывания чашки Петри помещались вверх дном в термостат на 48 часа. Через 48 часов производили подсчет колоний на поверхности и в глубине агара.

Достоверность разности средних показателей определялась по критерию Стьюдента [10].

2. Результаты исследований

2.1. Влияние метиленового синего на показатель БПК₅

Опыты проводились в двух сериях с различающейся продолжительностью. В предварительном опыте испытания проводили при концентрациях метиленового синего 1,0; 0,5; 0,1; 0,05 и 0,01 мг/л.

Изменение БПК₅ исследовалось в растворах фототоксиканта сразу после постановки опыта и на 5 сутки после постановки опыта. Результаты исследований приведены в табл. 2.1.

Выделены значения, статистически достоверно отличающиеся от контроля по критерию Стьюдента ($P \leq 0,05$)

Анализ результатов, приведенных в таблице, свидетельствует о том, что вещество в концентрациях 0,05 мг/л и выше в исходные сутки достоверно снижает БПК₅ и выступает как токсикант для гетеротрофных бактерий. На 5е сутки при этих концентрациях подавление сменяется достоверным повышением потребления кислорода. Это превышение идет, скорее всего, из-за наличия недоокисленной органики в первые 5 суток опыта.

Полуэффективная концентрация (пороговая), установленная регрессионной интерполяцией, составила величину 0,06 мг/л.

Концентрация 0,01 мг/л в первые сутки постановки опыта и на 5 день давала показатели, близкие к контролю. Эту концентрацию можно считать допустимой.

С учетом этих результатов было поставлено более длительное испытание.

Учитывая то, что в предварительном опыте показана высокая токсичность метиленового синего при концентрации 1,0 мг/л, эту концентрацию в основном

Таблица 2.2. Влияние метиленового синего на БПК₅ (мг/л O₂)

Концентрации метиленового синего (мг/л)	Срок, сутки				
	0	1	3	5	7
Контроль	5,2	4,9	3,1	1,9	1,4
0,005 % от контроля	5,1 98	5,2 106,1	2,8 90,3	1,8 94,5	1,3 92,9
0,01 % от контроля	5,0 96,1	4,9 100	3,3 106,5	1,7 89,5	1,6 114,3
0,05 % от контроля	4,2 80,8	4,5 91,8	4,6 148,4	3,5 184,2	2,4 171,4
0,1 % от контроля	3,2 61,5	4,8 98	4,9 158,1	4,6 257,9	3,1 214,3
0,5 % от контроля	2,5 48,1	3,5 71,4	3,7 119,4	3,4 179	3,2 228,6

опыте в спектр исследуемых мы не включали, что позволило снизить спектр исследуемых концентраций до 0,005 мг/л.

Изменение БПК₅ исследовали в растворах фототоксиканта сразу после постановки опыта, в первые сутки, третьи, пятые и на 7 сутки при концентрациях метиленового синего: 0,5; 0,1; 0,05; 0,01 и 0,005 мг/л. (Более длительное испытание дано в табл. 2.2.)

Выделены результаты, достоверно отличающиеся от контроля по критерию Стьюдента ($P \leq 0,05$; $t_{st} = 2,1$).

Анализ результатов, приведенных в таблице, показывает, что метиленовый синий в концентрациях от 0,5 до 0,05 мг/л, взятых в день постановки опыта и в последующие дни, оказывает статистически достоверное влияние на процесс БПК₅. Начиная с 3 суток снижение БПК₅ сменяется стимуляцией. Это может объясняться либо формированием адаптации к метиленовому синему сообществу сапрофитов, либо быстрой деградацией фотосенсибилизатора в растворе и утилизацией остаточной органики.

В качестве пороговой концентрации метиленового синего, влияющего на процесс БПК₅ (с учетом регрессионной интерполяции), в основном опыте может быть принята величина равная 0,06 мг/л.

При концентрации метиленового синего 0,01 мг/л подавление процесса БПК₅ не происходит. Эта концентрация метиленового показателя синего может быть принята в качестве максимальной допустимой для БПК₅.

2.1.2. Влияние растворов метиленового синего на динамику роста гетеротрофных бактерий

Численность сапрофитных бактерий, определяемых по количеству колоний, выросших на МПА 10 после инкубации в термостате, подсчитывали в день постановки опыта, а также на 1, 3, 5 и 7 сутки. Динамику роста бактерий исследовали при тех же концентрациях, которые применялись при определении действия метиленового синего на процессы нитрификации и аммонификации. Данные о влиянии метиленового синего на численность гетеротрофных бактерий представлены в табл. 2.3.

Отличие от контроля достоверно (выделено жирным шрифтом) ($P \leq 0,05$; $t_{st} = 2,45$)

Метиленовый синий в концентрациях 0,1 и 0,05 мг/л подавляет рост сапрофитных бактерий, особенно при наивысшей исследованной концентрации, и в некоторых случаях количество клеток в 1 мл раствора падает на два порядка по сравнению с контролем. При концентрации 0,05 мг/л метиленовый синий на 7 сутки не проявляет бактерицидного действия. По всей видимости, к этому времени он полностью инактивируется как фототоксикант. Таким образом, пороговой концентрацией сразу после внесения фотосенсибилизатора следует считать концентрацию 0,05 мг/л.

За максимально допустимую концентрацию метиленового синего, не влияющую на динамику прироста сапрофитных бактерий, следует принять концентрацию **0,01 мг/л.**

Таблица 2.3. Изменение численности микроорганизмов в 1 мл прудовой воды при действии метиленового синего

Концентрации метиленового синего (мг/л)	Срок, сутки				
	0	1	3	5	7
Контроль	$1,4 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$	$8,7 \times 10^5$	$4,3 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$
0,1	$3,1 \times 10^3$	$1,7 \times 10^2$	$7,2 \times 10^3$	$8,4 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$
% от контроля	22,1	0,26	0,83	19,5	3,6
0,05	$0,7 \times 10^4$	$3,6 \times 10^3$	$6,4 \times 10^5$	$9,1 \times 10^3$	$3,3 \times 10^4$
% от контроля	50	5,5	73,6	21,2	106,4
0,01	$1,6 \times 10^4$	$6,2 \times 10^4$	$8,5 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$
% от контроля	114,3	95,4	97,7	90,7	96,8
0,005	$1,7 \times 10^4$	$6,7 \times 10^4$	$9,1 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$	$2,9 \times 10^4$
% от контроля	121,4	103,1	104,6	104,6	93,5
0,001	$1,5 \times 10^4$	$6,3 \times 10^4$	$8,9 \times 10^5$	$4,2 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$
% от контроля	107,1	105	102,3	97,7	103,2

Таблица 3.1. Влияние профлавина на БПК₅ (мгО₂/л) в предварительном опыте

Концентрация профлавина в мг/л	БПК ₅ в день начала опыта	% от контроля	БПК ₅ на 5 сутки опыта	% от контроля
1,0	3,8	71	3,1	193
0,5	4,0	79	2,7	168
0,1	4,2	79	2,2	137
0,05	5,5	103	1,5	94
0,01	5,1	96	1,7	106
Контроль	5,3	100	1,6	100

3.2. Влияние профлавина на БПК₅

Как и при исследовании метиленового синего опыты с профлавином проводились в двух сериях с различающейся продолжительностью. В предварительном опыте были взяты следующие концентрации профлавина 1,0; 0,5; 0,1; 0,05 и 0,001 мг/л.

Изменение БПК₅ исследовалось в растворах токсиканта сразу после постановки опыта и на 5 сутки после постановки опыта. Результаты исследований даны в табл. 3.1.

Выделенные жирным шрифтом значения, статистически достоверно отличающиеся от контроля по критерию Стьюдента ($P \leq 0,05$)

Анализ результатов, приведенных в таблице, свидетельствует о том, что вещество в концентрациях 0,1 мг/л и выше в первый день опыта достоверно снижает БПК₅ и выступает как токсикант для гетеротрофных бактерий. При экспозиции растворов на свету в течение 5 дней угнетение потребления кислорода сменяется стимуляцией, и в склянках для определения БПК отмечается повышенное потребление кислорода. Регрессионной интерполяцией

установлена пороговая концентрация, вызывающая отклонение БПК более чем на 20%, она составляет 0,08 мг/л.

Концентрации 0,05 и 0,01 мг/л на первый и пятый день после постановки опыта не вызывают статистически достоверных отклонений показателя БПК₅ по сравнению с контролем.

С учетом этих результатов было поставлено более длительное испытание (данные о влиянии различных концентраций профлавина на изменение БПК₅ даны в табл. 3.2).

Изменение БПК₅ исследовали в растворах фототоксиканта сразу после постановки опыта, в первые сутки, третьи, пятые и на 7 сутки при тех же концентрациях профлавина, что и в предварительном опыте.

Шрифтом выделены значения показателя, достоверно отличающиеся от контроля ($P \leq 0,05$; $t_{st} = 2,1$)

Анализ результатов, приведенных в таблице, показывает, что профлавин в концентрациях от 0,1 и выше оказывает существенное, статистически достоверное влияние на процесс БПК₅. Экспозиция растворов на свету

Таблица 3.2. Влияние профлавина на БПК₅ (мг/л O₂)

Концентрации профлавина (мг/л)	Срок, сутки				
	0	1	3	5	7
1,0	3,8	3,5	3,7	3,1	2,1
% от контроля	73	71,4	119,3	163,1	131,2
0,5	4,0	4,8	4,9	2,7	1,6
% от контроля	77	98	158	142,1	100
0,1	4,2	4,5	4,6	2,2	1,4
% от контроля	21	91,8	148,4	115,8	87,5
0,05	5,5	4,9	3,3	1,5	1,6
% от контроля	105,8	100	106,4	79	100
0,01	5,1	5,2	2,8	1,7	1,3
% от контроля	98,1	106,1	90,3	89,5	81,2
Контроль	5,2	4,9	3,1	1,9	1,6

Таблица 3.3. Изменение количества микроорганизмов в 1 мл прудовой воды при действии профлавина

Концентрация профлавина (мг/л)	Срок, сутки				
	0	1	3	5	7
Контроль	1,4x10 ⁴	6,5x10 ⁴	8,7x10 ⁵	4,3x10 ⁴	3,1x10 ⁴
% от контроля	100	100	100	100	100
1,0	4,2x10 ³	1,9x10 ²	7,6x10 ⁴	8,8x10 ³	3,1x10 ³
% от контроля	30	0,3	8,7	20,5	10
0,5	1,6x10 ⁴	3,6x10 ³	6,4x10 ⁵	9,1x10 ³	3,2x10 ⁴
% от контроля	114,3	5,5	73,6	211,6	103,2
0,1	1,4x10 ⁴	7,0x10 ⁴	8,3x10 ⁵	4,1x10 ⁴	3,2x10 ⁴
% от контроля	100	107,7	95,4	93,2	103,2
0,05	1,7x10 ⁴	6,8x10 ⁴	9,1x10 ⁵	4,0x10 ⁴	2,8x10 ⁴
% от контроля	121,4	104,6	104,6	93	90,3
0,01	1,5x10 ⁴	6,0x10 ⁴	9,0x10 ⁵	4,4x10 ⁴	3,3x10 ⁴
% от контроля	93,3	92,3	103,4	102,3	106,5

в течение 7 дней приводит к исчезновению угнетающего эффекта, что, очевидно, связано с деградацией вещества в растворах. При концентрации 0,1 мг/л угнетение переходит к стимуляции, что может быть обусловлено присутствием дополнительного органического вещества, переставшего быть токсичным.

За максимально допустимую, не вызывающую изменений процесса БПК₅ следует рекомендовать концентрацию 0,05 мг/л.

3.2.2. Влияние растворов профлавина на динамику роста гетеротрофных бактерий

Численность сапрофитных бактерий, определяемых по количеству колоний, выросших на МПА после инкубации в термостате, подсчитывали в день постановки опыта, а также на 1, 3, 5 и 7 сутки. Данные о влиянии профлавина на численность сапрофитных бактерий представлены в табл. 3.3.

Отличие от контроля достоверно (выделено жирным шрифтом) ($P \leq 0,05$; $t_{st} = 2,45$)

Профлавин в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л вызывает подавление роста сапрофитных бактерий. При концентрации профлавина 1,0 мг/л отмечается угнетение прироста сапрофитных бактерий на протяжении всего опыта. При концентрации 0,5 мг/л ингибирование роста бактерий и бактерицидные свойства фотосенсибилизатора проявляются в течение пяти дней. Более низкие концентрации профлавина не влияют на динамику роста сапрофитных бактерий.

За допустимую концентрацию, не влияющую на количество микроорганизмов в растворах профлавина, следует принять 0,1 мг/л.

Заключение

Таким образом, сравнительный анализ токсичности метиленового синего и профлавина при фотодинамиче-

ском воздействии показывает, что метиленовый синий при меньших концентрациях, чем профлавин проявляет фототоксичность для сапрофитных бактерий в воде из природного водоема (допустимая концентрация для метиленового синего по таким показателям как изменение БПК₅ и прирост бактерий в мл прудовой воды оказались одинаковой, равной 0,01 мг/л, а для профлавина соответственно 0,05 и 0,1 мг/л). С точки зрения фототок-

сичности веществ для обеззараживания воды в больших объемах экономически выгодно применять метиленовый синий. Оба исследованных фотосенсибилизатора могут воздействовать на гетеротрофных бактерий при достаточно низких концентрациях, что является также одним из преимуществ из применения в фотодинамическом обеззараживании и очистки воды от биологического загрязнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Снегирев Д.В., Карпина Т.А. Перспективность использования профлавина ацетата для обеззараживания воды в отношении колифагов в условиях естественного микробиоценоза поверхностных водоемов// Перспективы науки. № 7 (58), 2014. С. 15–18.
2. Шабанов П.Д. Антисептики нового поколения, фармакология катапола и родственных соединений// Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2002, Т. 1, № 2, С. 64–72.
3. Drabkova M., Marsalek B., Admiraal W. Photodynamic therapy against cyanobacteria// Environ Toxicol. 22 (1): 2007. 112–115.
4. Kussovski V. K., Hristov A. E., Radoucheva T. S. (). Proflavine-mediated inactivation of Salmonella dublin exposed to visible sunlight in natural fresh water// Microbios. 105 (411): 2001, p. 119–125.
5. Кузнецова Н.А., Калия О.Л. Фотодинамическое обеззараживание воды// Химический журнал. Том: LVI. № 2, вып. 1, 2013. С. 100–109.
6. Ипатова В. И., Прохощая В. Ю., Дмитриева А. Г. Исследование токсичности веществ — сенсibilизаторов фотодинамического обеззараживания водной среды в двух-видовой тест-системе // Материалы Международной научной конференции Современное состояние водных биоресурсов и экосистем морских и пресных вод России: проблемы и пути решения. — Ростов-на-Дону, 2010. — С. 86–92.
7. Оганесова Е.В., Филенко О. Ф. Сравнительная токсичность азиновых красителей для брюхоногих моллюсков *Planorbis corneus* // Токсикологический вестник, № 6, 2012, С. 43–48.
8. Филенко О.Ф., Исакова Е. Ф., Самойлова Т. А., Гершкович Д. М. Действие тиазинового красителя метиленового синего на дафний. //Токсикологический вестник, № 5, 2011. С. 53–56.
9. Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998, 145 с.
10. Платонов А. Е. Статистический анализ в медицине и биологии. Задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: РАМН, 2000. 51 с.

© Пурцхванидзе Виолетта Александровна, Симаков Юрий Георгиевич (usimakov@yandex.ru), Баткаева Надежда Владимировна.
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»

