

Batukov Maxim Victorovich

State educational institution of higher education "Taganrog State Pedagogical Institute".

E-mail: stereo@66.ru.

8/2, Zavodskaya street, Taganrog, 347905, Russia.

Phone: +79185332628.

Isaev Pavel Pavlovich

E-mail: chemphys@mail.ru.

48, Inicativnaya street, Taganrog, 347936, Russia.

Phone: +78634601807.

УДК 556.3

В.Ю. Вишневецкий, Н.Г. Булавкова

**ВОЗМОЖНОСТИ АППАРАТУРНОЙ РЕАЛИЗАЦИИ БИОТЕСТЕРА
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНОЙ СРЕДЫ***

Рассмотрены методы биотестирования и способы их аппаратурной реализации. Проанализированы методы, используемые для построения биотестовых автоматизированных систем, как отечественного производства, так и зарубежные. Рассмотрены особенности оптического блока разработанного прибора для биотестирования.

Токсичность водной среды; биотестирование; тест-объект.

V.Yu. Vishnevetskiy, N.G. Bulavkova

**POSSIBILITIES OF HARDWARE REALIZATION OF THE BIOTESTER
FOR DEFINITION OF TOXICITY OF THE WATER ENVIRONMENT**

In article methods of biotesting and ways of their hardware realisation are considered. The methods used for construction of biotest automated systems, as domestic production, and foreign are analysed. Features of the optical block of the developed device for biotesting are considered.

Toxicity of the water environment, biotesting, test object.

Результатом интенсивной хозяйственной деятельности человека является загрязнение окружающей среды, в частности водной, многообразными токсикантами. Вследствие этого возникает кризисная экологическая ситуация, которая негативно влияет на здоровье людей. В связи с этим актуальной является задача разработки и реализации методов для получения информации о токсичности воды и источников загрязнения водных объектов.

Оценить комплексное влияние многообразных загрязняющих веществ на уровень токсичности позволяет биотестирование. Результаты биотестирования представляют интерес не только в экологическом, но и в гигиеническом плане. С одной стороны, в гигиенических исследованиях биотестирование используется как экспресс-метод оценки токсичности водной среды. С другой стороны, гидробионты принимают активное участие в процессах природного самоочищения водоемов от загрязнения, а токсичное влияние на них химических веществ может привести к снижению самоочищающей способности водоема и к ухудшению его санитарного режима, что важно с санитарно-гигиенической точки зрения [1].

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Федеральная целевая программа «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», мероприятие 1.3.1, направление «Мониторинг и прогнозирование состояния атмосферы и гидросферы», ГК № 1205 от 04.06.10).

В настоящее время существует определенное количество методов биотестирования, каждый из которых имеет свои особенности и характеризуется своими техническими способами реализации. С точки зрения технического оснащения наиболее доступными оказываются методы, основанные на регистрации общебиологических характеристик – подсчет численности или прироста популяций. Для проведения физиолого-биохимических оценок и определения соотношения, например, живых и мертвых клеток или флуоресценции тест-культур организмов, необходима специальная серийная аппаратура, устройства которых до настоящего времени производятся промышленностью в крайне недостаточном количестве [2].

Анализ зарубежной и отечественной литературы, посвященной биотестовому анализу, показал, что наибольший интерес вызывают те подходы, которые могут обеспечить комплексный мониторинг водной среды, включающей природные, сточные и питьевые воды. Решение этой задачи предполагает построение четкого алгоритма, соответствующего конкретной методике биотестирования и разработку специализированной аппаратуры, которая позволит удешевить, упростить и автоматизировать процесс проведения анализа.

Другими преимуществами аппаратурного биотестирования являются: уменьшение трудоемкости методик, возможность использования реакций, визуальный контроль которых невозможен или затруднен, возможность включения данных в экологический информационный комплекс [3].

Создание биотестовой аппаратуры основывается на общих принципах синтеза биотехнических систем. Основная функция биотестового канала – получение численного показателя на выходе системы с определенной достоверностью. Таким образом, с биотехнической точки зрения биотестирование можно рассматривать как измерительную задачу с определенным набором измеряемых параметров и особым метрологическим обеспечением.

Биотестовой измерительной (приборной) системой является комплекс аппаратно-методических средств, предназначенных для оценки биологической активности и, в частности, токсичности веществ различной природы [3].

Разработка аппаратуры для биотестирования – сложная комплексная задача, которая требует проведения технических, математических, а также токсикологических и биологических исследований. Результатом решения этой задачи должна стать разработка аппаратурных средств для количественной оценки изменений тест-объекта при воздействии на него токсикантом, что является показателем интегрального токсикологического состояния исследуемой биопробы.

Уровень аппаратного оснащения биотестовых методов развит пока слабо и в России, и за рубежом.

Первые приборы для биотестового анализа проводили измерения тест-реакций рыб, моллюсков и простейших ракообразных. Они были слабо автоматизированными и были неточными. Использование при биотестировании высокоразвитых организмов, в принципе, не может быть точным из-за индивидуального разброса свойств, а также из-за психофизиологических реакций, проявляющихся у организмов под действием раздражителей.

Вследствие этого наблюдается тенденция перехода от крупных тест-объектов (рыбы, моллюски, дафнии и т.п.) с их полуколичественной ответной реакцией на токсиканты к микроорганизмам, к которым можно отнести бактерии, водоросли, грибки, простейшие. Использование их в качестве тест-объекта позволяет судить о токсичности среды на популяционном уровне. Микробные популяции отличаются многочисленностью, таким образом, даже при наличии определенного расхождения индивидуальных свойств у членов популяции, можно говорить о большой достоверности результатов измерений.

В настоящее же время биотестовая аппаратура представляет собой комплексные автоматизированные системы, которые позволяют производить изме-

рения изменений в различных тест-объектах с высоким уровнем достоверности и надежности.

Например, российскими инженерами компании «НЕРА-С» был разработан прибор экологического контроля "Биотокс-10М" предназначенный для быстрого количественного контроля степени интегральной токсичности проб воды и водных вытяжек для медицинских, санитарно-гигиенических и экологических целей на основе биолюминесцентного анализа. В основу работы прибора положена новая технология экологического контроля с использованием высокочувствительных специализированных микробных сенсоров "Эколюм", разработанных на кафедре микробиологии биологического факультета МГУ. Особенностью этих сенсоров является их способность изменять интенсивность спонтанной биолюминесценции при наличии в анализируемых пробах токсических веществ различной химической природы [4].

Также известен прибор "Биотестер – 2" – специализированный импульсный фотометр, способный контролировать в условных единицах концентрацию инфузорий в верхней части кюветы в окрашенных и мутноватых средах. Прибор рассчитан на лаборанта средней квалификации. Не требует регулировок и настроек. Методики определения токсичности различных сред, реализуемые на приборах серии "Биотестер", основаны на контроле хемотаксической реакции инфузории-туфельки [5].

Для биотестирования токсичности природных и сточных вод по показателю воздействия на рост водоросли хлорелла разработан комплект оборудования, состоящий из многокюветного культиватора КВМ-05, устройства для наращивания культуры водоросли в стандартных температурных и световых условиях (КВ-05) и измерителя оптической плотности и температуры суспензий водоросли ИПТ-02 [6]. При использовании данного комплекта оборудования острый токсикологический эксперимент вместо 4 суток, согласно рекомендованной методике по биотестированию воды, может быть проведен за 22 часа. При этом исключается потребность в большом количестве химической посуды и реактивов, а также выделения значительных рабочих площадей для выполнения данного варианта биотестирования.

Фирмой Microbics Operations of Beckman Instruments, Inc. (США) был разработан биосенсор "Микротокс" (Microtox 5ТМ) на основе лиофилизированных морских люминесцентных бактерий *Photobacterium phosphoreum*.

Описанные приборы являются незначительной частью присутствующей на рынке биотестовой аппаратуры.

После изучения возможных аппаратурных реализаций приборов для биотестирования был теоретически разработан аппарат для оценки токсичности биопробы. В основу метода был положен принцип импульсной фотометрии, позволяющий анализировать характер изменения светового потока, вызванного изменением числа движущихся микроорганизмов при биологическом тестировании.

Данный выбор обоснован тем, что импульсные фотометрические методы обеспечивают высокую точность и чувствительность измерения. Эти методы весьма перспективны в связи с применением в схемах фотометров цифровой вычислительной техники, быстродействие которой согласуется с длительностью импульсов распространенных источников излучения (обработка информации ведётся в реальном масштабе времени).

В качестве тест-объекта для разрабатываемого метода предполагается использование инфузории туфельки (*Paramecium caudatum*) – одного из наиболее распространенных видов простейших. Биотестирование осуществляется по результатам хемотаксической реакции – это движение клетки в определенном направлении под влиянием притяжения повышенной концентрации некоего химического вещества. Хемотаксис имеет токсикологическую интерпретацию: микроорганизмы «уходят» из зоны опасности в безопасную зону или к источникам корма.

Предполагается использование данного прибора для определения:

- ◆ степени загрязненности различными токсикантами природных, сточных и питьевых вод;

- ◆ степени загрязненности водных вытяжек из различных сред.

Разрабатываемый прибор для биотестирования содержит в себе два блока: электронный и оптический.

Конструктивно оптические блоки для фотометрии включают в себя:

1. Источник излучения.
2. Кюветный отсек для размещения растворов исследуемых проб.
3. Приемник излучения.

При реализации методики биотестирования с помощью инфузорий тупелек необходимо создать красный монохроматический световой пучок с длиной волны 660 нм, который близок по спектру длинноволновому максимуму поглощения инфузорий. Таким образом, в качестве источника излучения был выбран светодиод.

В качестве устройства, преобразующего свет в электрический сигнал, предполагается использование кремниевого фотодиода.

Была разработана оптическая схема биотестера, которая представлена на рис. 1.

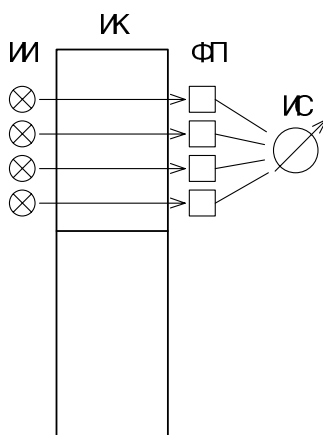


Рис. 1. Функциональная оптическая схема биотестера

Четыре источника излучения (ИИ), представляющие собой светодиоды с длиной волны 660 нм, формируют направленный равномерный поток излучения, который проходит через верхнюю часть измерительной кюветы (ИК) с исследуемой биопробой. На фотоприемники (ФП), в качестве которых выступают четыре фотодиода, поступает ослабленный поток излучения, который несет информацию о концентрации инфузорий в ИК. Фотодиоды преобразуют полученное излучение в электрический сигнал, который далее поступает на измерительную систему (ИС) разрабатываемого прибора.

Наличие четырех каналов прохождения света позволит судить об объемном распределении инфузорий в исследуемой биопробе воды.

Использование разработанного аппарата предоставляет для исследователя ряд возможностей:

- ◆ оценка уровня токсичности водных сред и вытяжек;
- ◆ простота использования прибора;
- ◆ оперативность получения токсикологической оценки;
- ◆ количественное выражение степени токсичности в виде безразмерного параметра от 1 до 100;

- ♦ высокая степень достоверности результатов измерений;
- ♦ возможность широкого модифицирования базовой методики оценки токсичности в зависимости от потребностей пользователя.

Таким образом, использование биотестера позволяет проводить анализ токсичности, затрачивая при этом незначительные временные и материальные ресурсы, но вместе с этим, получать достоверный и надежный результат о комплексной токсичности водной среды.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Усенко Е.В.* Использование биотестирования для эколого-токсикологической оценки водной среды // Интернет-источник – http://www.rusnauka.com/4_SWMN_2010/Ecologia/58821.doc.htm.
2. *Терехова В.А.* Биотестирование как метод определения класса опасности отходов // Интернет-источник – <http://fadr.msu.ru/~letap/biotesting2.html>.
3. *Пожаров А.В.* Биологическая диагностика экологической опасности продукции // Электронная версия журнала «Биосфера» – <http://biosphere21century.ru/articles/197>.
4. Прибор экологического контроля "Биотокс 10М" // Интернет-источник – http://www.nera-s.com/catalog/control_quality_water/Biotox/.
5. Биотестер – 2 // Интернет-источник – <http://dod.ru/biotester2/>.
6. Оборудование экологического мониторинга // Интернет-источник – <http://www.energolab.ru/?menu1=2&menu2=7&res=product&product=27>.

Вишневецкий Вячеслав Юрьевич

Булавкова Наталья Геннадьевна

Технологический институт федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Южный федеральный университет» в г. Таганроге.

E-mail: vvu@fer.tsure.ru.

347928, г. Таганрог, пер. Некрасовский, 44.

Тел.: 88634371795.

Vishnevetskiy Vyacheslav Yurievich

Bulavkova Natalia Gennadievna

Taganrog Institute of Technology – Federal State-Owned Educational Establishment of Higher Vocational Education “Southern Federal University”.

E-mail: bulavkova@mail.ru.

44, Nekrasovsky, Taganrog, 347928, Russia.

Phone: +78634371795.

УДК 556.3

В.Ю. Вишневецкий, В.М. Попружный

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ МЕДИ В ВОДЕ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ АЗОВСКОГО МОРЯ*

Приводится оценка содержания меди в воде и донных отложениях Азовского моря по результатам многолетнего мониторинга морской среды, проводимого совместно с ФГУ «Информационно-аналитический центр по водопользованию и мониторингу Азовского моря» (ФГУ «Азовморинформцентр»), проводимого в целях выявления межгодовой и межсе-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Федеральная целевая программа «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», мероприятие 1.3.1, направление «Мониторинг и прогнозирование состояния атмосферы и гидросферы», ГК № 1205 от 04.06.10).