

Александрова Лидия Владимировна
E-mail: lida@rshu.ru.
195196, С.-Петербург, Малоохтинский пр., 98.
Тел.: 88124444165.
Аспирант.

Nikolay Nikolaevich Tkachenko
The Russian State Hydrometeorological University.
E-mail: nick@rshu.ru.
3, Metallistov, Avenue, St.-Petersburg, 195196, Russia.
Phone: +78122243042.
Post-graduate Student.

Aleksandrova Lydia Vladimirovna
E-mail: lida@rshu.ru.
98, Maloohntinsky Avenue, St.-Petersburg, 195196, Russia.
Phone: +78124444165.
Post-graduate Student.

УДК 556.3

В.Ю. Вишневецкий, Н.Г. Булавкова, В.С. Ледяева

ПРИНЦИПЫ ПОСТРОЕНИЯ БИОТЕСТОВОЙ СИСТЕМЫ*

Рассмотрены основные методы, задачи и возможности биотестирования, описаны их преимущества, принципы их аппаратурной реализации. Рассмотрены типы тест-объектов, используемые для биотестового анализа, требования к их выбору. Проанализированы автоматизированные биотестовые системы как отечественного, так и зарубежного производства, описаны преимущества их использования для оценки токсичности. Рассмотрены основные принципы построения биотестовых систем на основании общих принципов синтеза биотехнических систем.

Биотестовая система; токсичность; тест-объект.

V.Yu. Vishnevetskiy, N.G. Bulavkova, V.S. Ledyayeva

PRINCIPLES OF CONSTRUCTION OF BIOTEST SYSTEM

In article basic methods of biotesting, challenges and opportunities are considered, their advantages, the principles of their hardware implementation are described. Consider the types of test objects used for biotest analysis, the requirements for their choice. Analyzed by the automated systems, as domestic production, and foreign are analysed, describes the benefits of their use to assess the toxicity. The basic principles of building biotest systems based on the general principles of synthesis of biotechnological systems are considered.

Biotest system; toxicity; test object.

В XXI в. на первый план выходит экологическая безопасность. Количество загрязняющих химических соединений в окружающей среде составляет уже несколько тысяч, и многие из них, находясь в микродозах, совместно воздействуют на живые организмы как токсический агент, распознать который химическими методами порой невозможно.

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (ГК П1205 от 04.06.2010 г.).

Под токсичностью, как известно, понимают способность веществ вызывать нарушения физиологических функций живых организмов, что приводит к интоксикациям и гибели сначала отдельных клеток, а потом и всего организма, особей в целом, если существо многоклеточное. Биотестирование же представляет собой методический прием лабораторной оценки качества образцов по реакциям подопытных организмов с известными и поддающимися учету характеристиками. Биологический объект в биотестировании фактически используется в качестве аналитического прибора или его части, при этом считается значительно более дешевым [1]. Также методы биотестирования являются достаточно оперативными и эффективными средствами интегральной оценки степени воздействия неблагоприятных факторов на природные комплексы. Использование биотестирования и комплекса физико-химических методов исследований позволяет проводить системный анализ экологического состояния объектов окружающей среды в районах добычи углеводородного сырья.

Существует большое количество биотестовых методов определения острой и хронической токсичности природных сред, каждый из которых имеет свои особенности и характеризуется своими техническими способами реализации. Наибольшую популярность для практического применения завоевали экспресс-методики, использующие современное аппаратное обеспечение, в силу своей оперативности, точности и надежности. 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 которой до настоящего времени производятся промышленностью в недостаточном количестве [1].

Выбор тест-объекта, пригодного для биотестирования, основывается на следующих требованиях:

- ◆ биологическая значимость – тест-объект должен быть типичным представителем природной экосистемы;
- ◆ безвредность для человека и животных;
- ◆ хорошая изученность;
- ◆ высокая чувствительность к токсичным веществам;
- ◆ доступность культивирования для любой практической лаборатории;
- ◆ низкая стоимость получения.

По чувствительности и степени изученности среди тест-организмов, используемых для биотестирования водных объектов, выделяют дафний (*Daphnia magna*, *Daphnia pulex*), несколько видов микроскопических одноклеточных зелёных водорослей из класса протококковых (сценедесмус *Scenedesmus quadricauda*, хлорелла *Chlorella* sp.) и пять-шесть видов рыб как аквариумных (гуппи, данио-рерио), так и мелких абorigенных (голец, гольян). Кроме того, для биотестового анализа можно использовать инфузорию-туфельку – *Paramecium caudatum*. Каждый из этих объектов имеет свои преимущества и ограничения при использовании, но ни один из организмов не может служить универсальным "тестером", одинаково чувствительным ко всем загрязняющим веществам.

Биотестирование может применяться для решения следующих задач:

- ◆ определение токсичности отдельных веществ, вынужденно или преднамеренно вносимых в окружающую среду, для представителей водных сообществ в целях скрининга и нормирования;

- ◆ выявление присутствия в объектах окружающей среды потенциальных токсикантов неизвестного состава, что могло бы служить основанием для последующего химического исследования этой среды;
- ◆ установление источников токсического загрязнения экосистем и оценка их интенсивности;
- ◆ определение необходимой степени разведения сточных вод до биологически и экологически безвредных уровней.

Уровень разработки методик и аппаратного оснащения биотестовых методов развит пока слабо и в России, и за рубежом. Наиболее широко биотестирование, как метод контроля, применяется в США, где разработаны унифицированные методы оценки токсичности водной среды, которые используются при определении предельно допустимых уровней загрязнения и разработке критериев качества воды. В информационную систему о токсичности сточных вод сложного состава, организованную Агентством по охране окружающей среды США, введены сведения о токсичности сточных вод или их влиянии на водные объекты по результатам биотестирования, выполненного на 4 650 тестах с использованием 145 тест-организмов. Токсикологические методы оценки качества воды и аппаратура для них разрабатываются и в ряде других стран: Англии, Франции, Германии, Швеции, Швейцарии и др. [3].

В настоящее время биотестовая аппаратура представляет собой комплексные автоматизированные системы, которые позволяют производить измерения изменений в различных тест-объектах с высоким уровнем достоверности и надежности.

Биотестирование на приборной основе позволяет:

- ◆ упростить все процедуры;
- ◆ автоматизировать процесс измерения;
- ◆ исключить субъективные факторы;
- ◆ ускорить измерение токсичности и повысить его точность.

Так, например, особенности реакций инфузорий на внешние воздействия были положены в основу работы приборов серии "Биотестер" и, в частности, массовой модели прибора "Биотестер-2м", предназначенного для реализации методики определения токсичности вод, почвы и донных осадков, твердых отходов и др. объектов и сред по хемотаксической реакции инфузории-туфельки. При оперативной оценке ситуации приборы серии "Биотестер" решают те же задачи, что и полностью скомплектованная химико-аналитическая лаборатория, но в отличие от нее использование биотестовых методов значительно снижает вероятность обнаружения опасной ситуации. Причем вид и количество доступных контролю вредных веществ и их сочетаний практически не ограничено [2].

Для быстрого количественного контроля степени интегральной токсичности проб воды и водных вытяжек для медицинских, санитарно-гигиенических и экологических целей российскими инженерами был разработан прибор экологического контроля "Биотокс-10М" на основе биOLUMИнесцентного 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 биOLUMИнесценции при наличии в анализируемых пробах токсических веществ различной химической природы [3].

Для биотестирования токсичности природных и сточных вод по показателю воздействия на рост водоросли хлорелла разработан комплект оборудования, состоящий из многоцветного 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 [4].

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 5™) на основе лиофилизированных морских люминесцентных бактерий *Photobacterium phosphoreum*.

Описанные приборы являются лишь частью присутствующей на рынке биотестовой аппаратуры.

Анализ зарубежной и отечественной литературы, посвященной биотестовому анализу, показал, что наибольший интерес вызывают те подходы, которые могут обеспечить комплексный мониторинг природной среды. Решение этой задачи предполагает построение четкого алгоритма, соответствующего конкретной методике биотестирования и разработку специализированной аппаратуры, которая позволит удешевить, упростить и автоматизировать процесс проведения анализа [5]. Другими преимуществами аппаратного биотестирования являются: уменьшение трудоемкости методик, возможность использования реакций, визуальный контроль которых невозможен или затруднен, возможность включения данных в экологический информационный комплекс.

Биологическое тестирование проводится на основе сравнения тест-реакций организмов на безвредную среду, среду, содержащую известный модельный токсикант (фактор), и среду неизвестного состава.

Биотестовой измерительной (приборной) системой является комплекс аппаратно-методических средств, предназначенных для оценки биологической активности и, в частности, токсичности веществ различной природы [6].

Построение биотестовой системы 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.

Разработка биотестовой системы – сложная комплексная задача, которая требует проведения технических, математических, а также токсикологических и биологических исследований. Результатом решения этой задачи должна стать разработка аппаратных средств для количественной оценки изменений тест-объекта при воздействии на него токсикантом, что является показателем интегрального токсикологического состояния исследуемой биопробы, а также специальных методик проведения данных исследований [5]. Современную биотестовую систему можно построить на основе адаптированной математической модели, которая будет реализовываться на основе функции распределения концентрации загрязнителя во времени и пространстве функцию распределения токсичности.

При разработке биотестовых систем важное значение имеет разработка измерительного преобразователя. Наиболее распространены оптические измерительные преобразователи, которые позволяют на выходе получить результат с минимальными погрешностями, а также оптико-акустический метод дает возможность прямого измерения оптических характеристик рассеивающих сред.

Помимо преобразователя, в состав биотестовой системы необходимо включить окружающую среду, т.е. среду лаборатории (Test environment), где проводится биотестирование проб. Окружающая среда не должна содержать вредных веществ; опыты должны проводиться при определенных температуре и влажности.

В частности, следует обратить особое внимание на летучие вещества промышленного, сельскохозяйственного, бытового и санитарно-гигиенического происхождения, на наличие ультрафиолетовых ламп или излучений с УФ-составляющей спектра. Любые опыты со сверхмалыми концентрациями веществ (мкг/л) должны трактоваться с учетом влияния фона помещения и остаточного фона воды.

Другой составляющей биотестовой системы является тест-объект, в качестве которого при проведении биотестирования лучше всего использовать микроорганизмы, это позволяет увеличить производительность биологического контроля и повысить его воспроизводимость. Биотестирование с помощью взвеси микроорганизмов наиболее адекватно для задач оперативного контроля стоков и создаваемых ими загрязнений окружающей среды, так как отражает быструю реакцию популяции организмов на интегральную вредность.

Таким образом, разработка биотестовой измерительной (приборной) системы является комплексной задачей, которая включает в себя разработку не только аппаратных средств, предназначенных для оценки токсичности веществ различной природы, но и методических средств, на основании которых производится выбор тест-объекта для биотестирования, устанавливается последовательность действий при анализе, а также описываются другие требования к работе с измерительным преобразователем.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Терехова В.А.* Биотестирование как метод определения класса опасности отходов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://fadr.msu.ru/~letap/biotesting.html>, свободный. – Загл. с экрана.
2. От ручных методик к автоматизированному приборному [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://biotester.ru/pribor.html>, свободный. – Загл. с экрана.
3. Прибор экологического контроля "Биотокс 10М" [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.nera-s.com/catalog/control_quality_water/Biotox/, свободный. – Загл. с экрана.
4. Оборудование экологического мониторинга [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.energolab.ru/?menu1=2&menu2=7&res=product&product=27>, свободный. – Загл. с экрана.
5. *Вишневецкий В.Ю., Булавкова Н.Г.* Возможности аппаратной реализации биотестера для определения токсичности водной среды // Известия ЮФУ. Технические науки. – 2010. – № 9 (110). – С. 113-117.
6. *Хакунов М.Р.* Необходимость применения биологических методов при анализе загрязнений окружающей среды [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.mkgtu.ru/docs/KONF_SEM/hakunov.pdf, свободный. – Загл. с экрана.

Статью рекомендовал к опубликованию д.т.н. С.П. Тарасов.

Вишневецкий Вячеслав Юрьевич

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

E-mail: vvu@fep.tti.sfedu.ru.

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

Тел.: 88634371795.

Кафедра электрогидроакустической и медицинской техники; к.т.н.; доцент.

Булавкова Наталья Геннадьевна

E-mail: bulavkova@mail.ru.

Кафедра электрогидроакустической и медицинской техники; магистрантка.

Ледяева Валерия Сергеевна

E-mail: val2269@yandex.ru.

Кафедра электрогидроакустической и медицинской техники; магистрантка

Vishnevetsky Vyacheslav Yurevich

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

E-mail: vvu@fep.tti.sfedu.ru.

44, Nekrasovsky, Taganrog, 347928, Russia.

Phone: +78634371795.

Department of Hydroacoustic and Medical Engineering; Cand. Eng. Sc.; Assistant Professor.

Bulavkova Natalia Gennadievna

E-mail: bulavkova@mail.ru.

The Department of Hydroacoustic and Medical Engineering; Undergraduate.

Ledyeva Valeriya Sergeevna

E-mail: val2269@yandex.ru.

The Department of Hydroacoustic and Medical Engineering; Undergraduate.

УДК 534.222.2

В.Ю. Волощенко

**К ВОПРОСУ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНЕРАЦИИ
ПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ АНТЕННОЙ НЧ- И ВЧ-КОМПОНЕНТ СПЕКТРА**

Предложено объяснение различной эффективности нелинейной генерации в водной среде низкочастотных и высокочастотных компонент спектра излучения параметрической антенны, сформированной волнами накачки средней интенсивности с гауссовым распределением амплитуд сигналов поперек апертуры взаимодействующих пучков. Для волны суммарной частоты волновой размер длины области формирования сигнала является постоянной величиной. Изменения отношений коэффициентов преобразования по давлению происходят только вследствие появления различий волновых размеров области формирования на разностной частоте и исходных частотах накачки. Это приводит к перераспределению амплитудных соотношений спектральных компонент излучения параметрической антенны.

Нелинейная акустика; излучающая параметрическая антенна.

V.Y. Voloshchenko

**THE PARAMETRIC TRANSMITTING ARRAY: THE EFFICIENCY
EVALUATION OF LF AND HF SIGNAL COMPONENT'S GENERATION**

The paper presents the explanation of various generation efficiency in nonlinear medium of LF and HF spectral components by parametric transmitting array formed on average intensity pump waves with the normal amplitude distribution crosswise aperture. For a wave of total frequency the wave size of length of area of formation of a signal is a constant. Changes of relations of factors of transformation on pressure occur only owing to occurrence of distinctions of the wave sizes of area of formation on разностной frequency and initial frequencies of a rating. It leads to redistribution of peak parities spectral a component of radiation of the parametrical aerial.

Nonlinear acoustics; the transmitting parametric array.

Проектирование и внедрение устройств активной локации с параметрическими антеннами началось в нашей стране [1] в начале 70-х годов прошлого столетия и было обусловлено соответствием пространственных характеристик акустических полей низкочастотных спектральных компонент спектра излучения акустическим и сложным задачам широкополосного «дальнего» эхопоиска объектов на морском шельфе. Использование лишь одной компоненты спектра – волны разно-