

МЕТОД БИОТЕСТИРОВАНИЯ В ПРАКТИКЕ РАБОТЫ ЭКОАНАЛИТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

Власова К.С.

ФГБОУ ВПО «Мурманский государственный гуманитарный университет»

(183720, г. Мурманск, ул. Капитана Егорова, д.15), e-mail: dzhessika_www@mail.ru

Используемые методы физико-химического контроля не всегда могут дать адекватную картину действия того или иного вещества на живой организм. В связи с этим в системе контроля за состоянием природных сред важную и самостоятельную роль играет биотестирование, которое представляет собой процедуру установления токсичности среды с помощью тест-объектов.

Целью работы являлось изучение возможностей использования метода биотестирования для определения качества окружающей среды.

В рамках проведенного исследования рассмотрено понятие и сущность метода биотестирования, проанализированы основные группы тест-объектов и их тест-функции, изучены возможности применения биотестирования для определения класса опасности отходов, дана характеристика требованиям к компетентности экоаналитических лабораторий, выполняющих биотестирование, проанализированы особенности использования метода биотестирования в практике работы экоаналитических лабораторий на примере деятельности ФБУ «Центр лабораторного анализа и технических измерений по Мурманской области».

Ключевые слова: качество окружающей среды, биотестирование, тест-организм, тест-функция, класс опасности отхода.

METHOD OF BIOTESTING IN PRACTICE OF WORK ECOLOGICAL ANALYTICAL LABORATORIES

Vlasova K.S.

Federal state budget educational institution of higher education «Murmansk State Humanities University» (183720, Murmansk, st. Egorova, 15), e-mail: dzhessika_www@mail.ru

Used methods of the physical and chemical control not always can give an adequate picture of action of this or that substance on an alive organism. In this connection in the monitoring system behind a condition of environments the important and independent role is played with biotesting which represents procedure of an establishment of toxicity of environment by means of the test-objects.

Objective of work was studying possibilities of use of a method of biotesting for definition of quality of an environment.

Within the limits of carried out research the concept and essence of a method of biotesting is considered, is analysed the basic groups the test-objects and their test-function, possibilities of application of biotesting for definition of a class of danger of waste are studied, the characteristic is given to requirements to competence ecological analytical laboratories which are carrying out biotesting, features of use of a method of biotesting in

practice of work ecological analytical laboratories on an example of activity the «Centre of the laboratory analysis and technical measurements on Murmansk area» are analysed.

The Key Words: quality of an environment, biotesting, the test-organism, the test-function, class of danger of a withdrawal.

В различных областях промышленности ощущается всё большая потребность в проведении разнообразных биологических тестов, обусловленная невозможностью использования инструментальных методов для оценки ряда параметров качества среды. Используемые в производственных лабораториях методы физико-химического, аналитического и микробиологического контроля не всегда могут дать адекватную картину действия того или иного вещества на живой организм. Многие вещества как природного, так и синтетического происхождения, являются многокомпонентными, что затрудняет их физико-химическую стандартизацию.

В связи с этим в системе контроля за состоянием природных сред и экосистем важную и самостоятельную роль играет биотестирование, которое представляет собой процедуру установления токсичности среды с помощью тест-объектов.

Исходя из этого, целью работы являлось изучение возможностей использования метода биотестирования для определения качества окружающей среды.

В рамках проведенного исследования рассмотрено понятие и сущность метода биотестирования, проанализированы основные группы тест-объектов и их тест-функции, изучены возможности применения биотестирования для определения класса опасности отходов, дана характеристика требованиям к компетентности экоаналитических лабораторий, выполняющих биотестирование, проанализированы особенности использования метода биотестирования в практике работы экоаналитических лабораторий на примере деятельности ФБУ «Центр лабораторного анализа и технических измерений по Мурманской области».

Объектом исследования являлось биотестирование как метод оценки качества окружающей среды. Предметом – возможности использования биотестирования в работе экоаналитических лабораторий.

Биотестирование предполагает определение степени опасности среды с помощью биологических объектов. При этом производят определение действия токсикантов на специально выбранные организмы в стандартных условиях с регистрацией различных поведенческих, физиологических или биохимических показателей.

В зависимости от длительности биотестирования выделяют острое, краткосрочное и хроническое тестирование.

Перечень наиболее широко распространенных в России биотестов, применяемых в природоохранных целях, включает методы с использованием ряда эвриотопных видов: зеленых водорослей – сценедесмус (*Scenedesmus quadricauda* Turp. Breb.) и хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer.), ракообразных – дафний (*Daphnia magna* Straus.) и цериодафнии (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg), простейших – инфузории (*Paramecium caudatum* Erenberg.) и др. Анализ возможностей использования разнообразных групп организмов позволил обобщить данные; в таблице 1 показаны основные тест-объекты, регистрируемые у них параметры и отклонения под действием токсикантов.

Таблица 1

Возможности использования разных таксономических групп организмов при проведении биотестирования

Тест-организм	Измеряемый параметр	Принцип определения
МИКРООРГАНИЗМЫ		
Бактерии (<i>Photobacterium</i>)	- количество потребляемого O ₂ (дыхание); - нитрификация	- кислородные электроды измеряют разницу в концентрациях растворенного кислорода на входе и выходе; - присутствие токсиканта ингибирует нитрификацию: концентрация NH ₃ на входе и выходе остается почти одинаковой
ВОДОРΟΣЛИ		
<i>Scenedesmus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Nitella</i>	-интенсивность фотосинтеза; - флуоресценция; - реакция протоплазматической мембраны клеток	- угнетение фотосинтеза - замедление флуоресценции - электрофизиологический метод регистрации состояния мембраны клеток водорослей
БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ		
крупные беспозвоночные (речные раки)	- активность - дыхание	- регистрация изменения дыхания – респирометр, концентрации кислорода – оксиметр (снижение активности и дыхания)
Дафнии	- движение грудных ножек	- загрязняющие вещества снижают скорость движения ножек
инфузории, коловратки, артемии	- фототаксис	- нарушение фототаксиса
МОЛЛЮСКИ		
Двустворчатые	- реакция закрывания раковины	- быстрее закрывают створки
РЫБЫ		
радужная	рефлекс «кашля»,	- брадикардия, повышение уровня

форель, европейский сазан, кижуч, морской язык, смарида, зеленый ушастый окунь, арктический голец и мн.др.	скорость потребления растворённого кислорода, движение жаберных крышек, реакция избегания, реотаксис, изменение состава крови, частоты сокращения сердца, положения тела и др.	глюкозы в крови, снижение артериального давления, увеличение содержание гемоглобина и эритроцитов, снижение лейкоцитов, снижение локомоторной активности, реакция избегания токсических веществ (покидание «жилой» зоны), раздражение поверхности жабер, при котором обычно наблюдается обратный ток воды через жабры (рефлекс «кашля»), увеличение частоты движение жаберных крышек и др.
------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Как видно, многочисленные поведенческие, физиологические и другого рода реакции отмечены для рыб. Среди моллюсков возможно применение двустворчатых, так как оцениваемая реакции – закрывание створок раковины под действием токсикантов.

Метод биотестирования используется в случаи, если: 1) необходимо подтвердить 5 класс опасности, установленный расчетным методом; 2) невозможно определить качественный и количественный состав отхода; 3) при уточнении класса опасности отхода, полученного расчетным методом.

Согласно «Критериям отнесения опасных отходов к определенному классу опасности» обязательной является экспериментальная процедура, включающая анализ не менее чем на двух тест-объектах из разных биологических таксонов или групп (ракообразные и простейшие, водоросли и бактерии и т.п.). Если разнообразные тест-системы показывают не одинаковую реакцию, то в окончательном результате следует учитывать наиболее чувствительный ответ.

Класс опасности устанавливается по кратности разведения водной вытяжки, при которой не выявлено воздействие на гидробионтов в соответствии со следующими диапазонами кратности разведения.

При оценке самих лабораторий особое внимание обращается на лабораторно-инструментальные исследования. Одним из самых серьезных требований к лабораториям, осуществляющим биотестирование водных вытяжек отходов, во многих случаях является обеспечение юридической силы результатов измерений в связи с тем, что они являются основанием для начисления платежей, штрафов, возбуждения исков и др.

К средствам измерения, применяемым при экоаналитических работах, предъявляются достаточно жесткие требования. Сертификат на СИ установленного типа выдается на определенный срок не более 5 лет.

В настоящее время в РФ существует 2 вида оценки технической компетентности аналитических и испытательных лабораторий: аккредитация испытательных и аналитических лабораторий и оценка состояния измерений.

Аккредитация испытательной лаборатории - это официальное признание полномочным органом компетентности (способности) лаборатории проводить конкретные испытания или конкретные виды испытаний в определенной области деятельности.

Процедура аккредитации включает следующие этапы: подготовка области аккредитации на заявленные виды работ; разработка паспорта лаборатории, положения руководства по качеству; проведение экспертизы документов, представленных для аккредитации на соответствие требованиям, предъявляемым к аккредитованным лабораториям, и проверка готовности и оснащенности лаборатории; по результатам проверки выездной комиссии составляется акт о готовности лаборатории к аккредитации; выдача аттестата аккредитации лаборатории.

«Центр лабораторного анализа и технических измерений по Мурманской области (ЦЛАТИ по МО)» является базовой экоаналитической лабораторией региона и методическим центром государственной системы экологического мониторинга. Лаборатория «ЦЛАТИ» аккредитована в Системе аккредитации аналитических лабораторий (Центров) Госстандарта России на техническую компетентность и независимость при проведении исследований объектов окружающей среды, отходов производства и потребления.

Лаборатория использует следующие методики биотестирования: 1) методика определения токсичности по смертности рачков-дафний (*Daphnia magna*); 2) методика определения токсичности по изменению оптической плотности культуры зеленой водоросли Хлорелла (*Chlorella vulgaris*); 3) методика оценки чувствительности культур дафний и хлореллы с помощью модельного токсиканта (бихромата калия); 4) методика определения токсичности по различию в числе клеток инфузорий в опыте и контроле. Данные методики являются официальными, протоколы испытаний, выданные аккредитованной организацией, имеют юридическую силу.

По итогам проведенного анализа сформулированы следующие выводы:

1) Биотестирование предполагает определение степени опасности среды с помощью биологических объектов. В качестве биотестов применяют разнообразные группы организмов: от микроорганизмов до беспозвоночных и рыб.

2) Исходя из группы тест-объектов, их тест-функции значительно отличаются: от фототаксиса у простейших до рефлекса кашля и брадикардии у рыб. Общим для всех тест-объектов является процент смертности в зависимости от концентрации токсиканта.

3) На практике наиболее распространенными методами биотестирования являются те, в которых фиксируются такие интегральные параметры, как показатели выживаемости, роста, плодовитости тест-организмов.

4) С точки зрения технического оснащения наиболее доступными оказываются методы, основанные на регистрации общебиологических характеристик — подсчет численности или прироста популяций.

5) Метод биотестирования используется для подтверждения 5 класса опасности отхода. Основное требование при этом — использование не менее 2-х тест-культур.

6) В Центре лабораторного анализа в г. Мурманске биотестирование проводится с использованием 3-х тест-объектов: инфузории, дафнии, водоросли Хлорелла. В ЦЛАТИ по МО функционирует биологическая лаборатория, где осуществляется данная процедура.

Список использованной литературы

1. Акинина, Е. В. Методика определения токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий [Текст] / Е. В. Акинина, С. С. Беднаржевский [и др]. – СПб : Питер, 2009. – 102 с.
2. Аттестация испытательного оборудования [Электронный ресурс] : ГОСТ РФ Р 8.568-97 [принят и введ. в дейст. Постановлением Госстандарта России от 10.11.1997 г. № 364]. – Режим доступа : <http://files.stroyinf.ru/Data1/11/11606/>, свободный. – (Дата обращения : 24.04. 2013).
3. Брагинский, Л. П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* Str. и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор) [Текст] / Л. П. Брагинский // Гидробиологический журнал. – 2000. – Т. 36. – №5. – С. 50-70.
4. Виноходов, Д. О. Биотестирование как метод научного исследования. Инфузории в биотестировании [Текст] / Д. О. Виноходов, В. О. Виноходов, А. И. Гинак // Инфузории в биотестировании : Тезисы докладов международной заочной научно-практической конференции. – СПб, 2008. – С. 40-43.
5. Григорьев, Ю. С. Методика определения токсичности водных вытяжек из почв, осадков, сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus [Текст] / Ю. С. Григорьев. – Красноярск : КрасГУ, 2006. – 46 с.
6. Григорьев, Ю. С. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков

сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) [Текст] / Ю. С. Григорьев. – Красноярск : КрасГУ, 2004. – 19 с.

7. Ляшенко, О. А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды [Текст] : учебное пособие / О. А. Ляшенко. – СПб : СПб ГТУРП, 2012. – 67 с.
8. Мелехова, О. П. Биологический контроль окружающей среды : биоиндикация и биотестирование [Текст] / О. П. Мелехова. – М. : Владос, 2010. – 96 с.
9. Система аккредитации в РФ. Общие требования к аккредитации испытательных лабораторий [Текст] : ГОСТ Р 51000.4-96. – М. : Госстандарт России, 1998 (копия документа № 036.637).
10. Хоружая, Т. А. Биотестирование как метод научного исследования [Текст] / Т. А. Хоружая. – М. : Наука, 2009. – 218 с.