
ІННОВАЦІЙНІ АСПЕКТИ ПІДВИЩЕННЯ РІВНЯ ЕКОБЕЗПЕКИ

УДК 502.43:504.064

МІКРОБНІ БІОСЕНСОРНІ АНАЛІЗАТОРИ ЯК СПОСІБ ЕКСПРЕСНОГО МОНІТОРИНГУ ПАРАМЕТРІВ ЕКОТОКСИЧНОСТІ В ОБ'ЄКТАХ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Резніченко Л.С., Грузіна Т.Г., Дибкова С.М.
Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України
бульв. Вернадського, 42, 03142, м.Київ
Reznichenko_LS@mail.ru

Розроблено мікробні біосенсорні аналізатори як ефективний спосіб експресного моніторингу параметрів екоотоксичності в об'єктах навколишнього середовища, зокрема рівня забрудненості важкими металами та токсичними органічними сполуками. Визначено основні переваги: висока чутливість, портативність, експресність, доступність для широкого загалу користувачів, економічність. *Ключові слова:* мікробні біосенсори, експресний моніторинг, важкі метали, органічні поллютанти, навколишнє середовище, екоотоксичність, екологічна безпека.

Микробные биосенсорные анализаторы как способ экспрессного мониторинга параметров экотоксичности в объектах окружающей среды. Резниченко Л.С., Грузина Т.Г., Дыбкова С.Н. Разработаны микробные биосенсорные анализаторы как эффективный способ экспрессного мониторинга параметров экотоксичности объектов окружающей среды, в частности уровня загрязнения тяжелыми металлами и токсичными органическими соединениями. Определены их основные преимущества: чувствительность, портативность, экспрессность, доступность широкому кругу потребителей, экономичность. *Ключевые слова:* микробные биосенсоры, экспрессный мониторинг, тяжелые металлы, органические поллютанты, окружающая среда, экотоксичности, экологическая безопасность.

Microbial biosensors as method for express monitoring of ecotoxicity parameters in the environment. Rieznichenko L., Gruzina T., Dybkova S. The article describes developed microbial biosensor analyzers as effective method for express monitoring of ecotoxicity parameters in the environment, in particular the level of its contamination by heavy metals and toxic organic compounds. Among their main advantages: sensitivity, portability, rapidity, availability to a wide range of users, thrift. *Keywords:* microbial biosensors, express monitoring, heavy metals, organic pollutants, environment, ecotoxicity, ecological safety.

У сучасних умовах антропогенного навантаження питання екологічної безпеки та збереження навколишнього середовища займають особливе місце. Адекватне якісне та кількісне визначення параметрів екотоксичності в об'єктах навколишнього середовища неможливе без застосування широкого спектра біологічних методів аналізу. Водночас, необхідність широкого застосування коштовних та тривалих за часом методів для забезпечення достовірності одержаних результатів ставить проблему впровадження нових високочутливих, експресних та простих методів екомоніторингу на новий рівень.

Серед інноваційних методів моніторингу параметрів екотоксичності в об'єктах навколишнього середовища, в тому числі водних об'єктах та ґрунтах, особливе місце сьогодні займає біосенсорний аналіз, якому належить провідна роль серед сучасних біоаналітичних пристроїв, що дозволяють використовувати високочутливі «інтелектуальні» методи вимірювання вмісту хімічних сполук або біологічних ефектів у зразках. Із різноманіття існуючих біосенсорних аналітичних систем особлива увага у практиці екологічного моніторингу об'єктів навколишнього середовища приділяється мікробним біосенсорам, оскільки штами мікроорганізмів, що використовуються при конструюванні сенсорних елементів, забезпечують високу чутливість до екотоксичної компоненти забруднювачів та не потребують коштовних та складних методів культивування.

Беззаперечною перевагою мікробних біосенсорних систем як засобів екомоніторингу порівняно з традиційними біологічними і, передусім, хіміч-

ними методами аналізу виділено: експресність методу; високе чутливість до екотоксичної компоненти органічних та/або неорганічних поллютантів; простота виконання; легкість експлуатації; добра відтворюваність; стійкість до впливу зовнішніх факторів у процесі виробництва; економічність.

Ці переваги пояснюють найбільшу розповсюдженість та популярність використання в екоаналітичній практиці саме мікробних біосенсорів.

В Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка розробляються мікробні біосенсорні аналізатори для експресного високочутливого моніторингу параметрів екотоксичності, зокрема рівня забрудненості об'єктів навколишнього середовища важкими металами та токсичними органічними сполуками.

Багаторічні фундаментальні дослідження характеру відгуку високоспецифічних природних і сконструйованих бактеріальних штамів мікроорганізмів на присутність поллютантів органічної та неорганічної природи дали змогу розробити низку сенсорних елементів портативних біосенсорних біолюмінесцентних та БСК-аналізаторів для експресного моніторингу параметрів екотоксичності.

Мікробний біосенсор для експресного моніторингу рівня загальної екотоксичності та оцінки ступеня забрудненості важкими металами об'єктів навколишнього середовища належить до систем оптичного типу.

Підхід, використаний у запропонованому мікробному біосенсорі для визначення загальної екотоксичності та/або вмісту важких металів базується на реєстрації змін інтенсивності біолюмінесценції бактеріальних шта-

мів – компонентів сенсорних елементів під впливом токсичних речовин, присутніх у пробі, що аналізується, порівняно з контролем.

До сенсорних елементів розробленого біолюмінесцентного біосенсорного аналізатора для визначення рівня загальної екотоксичності та оцінки ступеня забрудненості важкими металами об'єктів навколишнього середовища входять мікроорганізми, що володіють природною або індукованою біолюмінесценцією: *Pseudomonas fragi* T2(5) [Tc RZnR lux+], *Vibrio fisheri* F1, *Photobacterium phosphoreum* B 7071, *Vibrio harvei* Ms1, *Alcaligenes eutrophus* 1239.

Відгук сенсорних елементів забезпечується високочутливою та експресною реакцією клітин сенсорного елемента на інтегральну дію токсикантів та може бути зареєстрований біолюмінометром. Люмінесцентні бактерії характеризуються оптимальним поєднанням різних типів структур, що відповідають за генерацію біопшкоджень, з експресністю, об'єктивним та кількісним характером відгуку цілісної системи. Зокрема, біолюмінесцентні бактерії містять фермент люциферазу, який здійснює ефективну трансформацію енергії хімічних зв'язків життєво необхідних метаболітів у світловий сигнал на рівні, придатному для вимірювань.

Ефективність застосування розробленого мікробного біосенсора показана на прикладі визначення рівня загальної екотоксичності та вмісту важких металів у складних багатоконпонентних водних об'єктах, яке було проведено в польових умовах на прикладі зразків природної солоної та прісної води (місце відбору – акваторія ВАТ МК “Азовсталь”).

На рисунках 1 та 2 наведено результати аналізу проб води, виконаного класичними сертифікованими методами за ДСТУ: визначення вмісту заліза, міді, цинку, марганцю (рис. 1), та біосенсорним методом з використанням тест-штамів – сенсорних елементів і портативного біолюмінометра (рис. 2).

Проведені випробування сенсорних елементів в польових умовах на складних за хімічним складом, багатоконпонентних природних зразках солоної та прісної води засвідчили кореляцію даних щодо рівня загальної екотоксичності та вмісту важких металів у пробах, аналізованих класичними хімічними сертифікованими методами (рис. 1) – наведені дані класичного аналізу вмісту важких металів, перераховані відносно гранично допустимої концентрації (ГДК)) за показниками загальної екотоксичності та вмісту важких металів, визначеними за допомогою розробленого мікробного біосенсорного аналізатора (рис. 2).

Результати досліджень характеру відгуку тест-штамів сенсорних елементів при визначенні рівня загальної екотоксичності та вмісту важких металів у складних багатоконпонентних водних об'єктах свідчать про їх ефективність при аналізі параметрів екотоксичності в об'єктах навколишнього середовища. При цьому, на відміну від класичних хімічних методів, тривалість біосенсорного аналізу становила менше 30 хвилин.

Мікробний біосенсор для експресного моніторингу рівня забрудненості органічними поліюгантами об'єктів навколишнього середовища розроблений з використанням *Pseudomonas fluorescens* B4252,

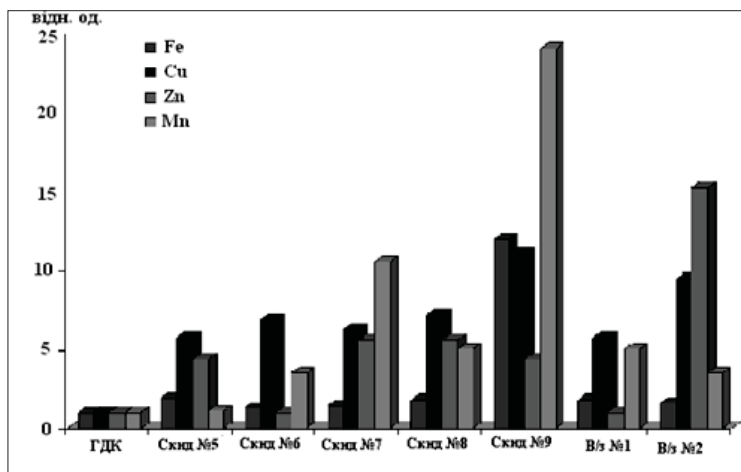


Рис. 1. Дані класичного аналізу (стандартизовані хімічні методи аналізу) рівня забрудненості важкими металами природної та стічної води: місце відбору – акваторія ВАТ МК “Азовсталь”

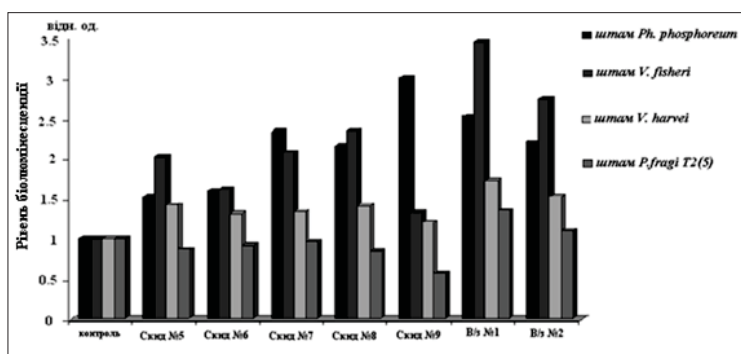


Рис. 2. Дані біосенсорного аналізу рівня забрудненості важкими металами природної та стічної води: місце відбору – акваторія ВАТ МК “Азовсталь”

Pseudomonas fluorescens B5040, *Pseudomonas* sp. B4251, *Pseudomonas fluorescens* (AC), та *Pseudomonas putida* K.

Їх застосування у біосенсорному аналізі дозволяє проводити експресний моніторинг рівня забрудненості об'єктів навколишнього середовища органічними полутантами (побутовими стічними водами, паливно-мастильними матеріалами, гербици-

дами, поверхнево-активними речовинами, тощо).

Метод, що пропонується, базується на визначенні змін респіраторної (дихальної) активності асоціату клітин бактеріальних штамів – високоактивних деструкторів широкого спектра органічних сполук, які становлять основу біологічно-чутливого елемента мікробного біосенсорного БСК-аналізатора.

БСК – біологічне (біохімічне) споживання кисню – це кількість елементного кисню у міліграмах, яке поглинається 1 дм³ проби за умов біохімічного окислення органічних забруднювачів під дією мікроорганізмів. Визначення показника БСК дозволяє адекватно оцінити рівень забрудненості зразка, що аналізується, органічними поллютантами. Класичний метод визначення БСК є довготривалим та громіздким процесом і триває не менше 5 діб.

Біосенсорний метод визначення БСК, що пропонується, має суттєві переваги порівняно з існуючим класичним методом: експресність (тривалість аналізу – 20 хвилин); висока чутливість до широкого спектра органічних забруднювачів; простота виконання; економічність.

За природою трансдьюсера розроблений мікробний біосенсор експресного моніторингу рівня забрудненості органічними поллютантами належить до біосенсорів електрохімічного типу: як трансдьюсер виступає кисень-чутливий – електрод типу Кларка.

Висновки

Результати численних досліджень щодо визначення ефективності застосування розроблених мікробних біосенсорних аналізаторів свідчать про значні переваги їх запровадження у практику моніторингу параметрів екоотоксичності: висока чутливість до екоотоксичної компоненти широкого спектра органічних та неорганічних поллютантів, простота виконання, легкість експлуатації, добра відтворюваність, стійкість до впливу зовнішніх факторів у процесі виробництва, економічність розроблених біосенсорних систем.

Серед основних переваг розроблених мікробних біосенсорів, порівняно з традиційними методами, слід відмітити: високий рівень чутливості, відсутність складної пробопідготовки, портативність, можливість використання в польових умовах, експресність (час аналізу не перевищує 20-30 хв.), економічність, відсутність потреби у висококваліфікованому персоналі.