



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61159 (13) U
(51) МПК
G01N 33/18 (2006.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

1

2

(21) u201015386

(22) 20.12.2010

(24) 11.07.2011

(46) 11.07.2011, Бюл.№ 13, 2011 р.

(72) БЕСПАЛОВ ЮРІЙ ГАВРИЛОВИЧ, ЖОЛТКЕ-
ВИЧ ГРИГОРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, КОВАЛЕНКО
МАРИНА ВІКТОРІВНА, КОЛЕСНИКОВА МАРІЯ
ЮРІЇВНА, НОСОВ КОСТЯНТИН ВАЛЕНТИНОВИЧ,
ПСАРЬОВ ВОЛОДИМИР ОЛЕКСАНДРОВИЧ,
УТЄВСЬКИЙ АНДРІЙ ЮРІЙОВИЧ, ГАЙДАЧУК
ОЛЕКСАНДР ВІТАЛІЙОВИЧ, КОБРІН ВІТАЛІЙ МИ-
КОЛАЙОВИЧ, ЕРСМАМБЕТОВ В'ЯЧЕСЛАВ ШИ-
ХАМЕТОВИЧ(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИ-
ТЕТ ІМ. В. Н. КАРАЗІНА, НАЦІОНАЛЬНИЙ АЕРО-
КОСМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. Є. ЖУКОВСЬ-
КОГО "ХАРКІВСЬКИЙ АВІАЦІЙНИЙ ІНСТИТУТ"(57) 1. Спосіб дослідження гострої токсичності во-
дного середовища, що включає вміщення у дослі-
джуване водне середовище контейнера з тестовим
живим біологічним об'єктом, який
відрізняється тим, що тестовий живий біологіч-
ний об'єкт перед вміщенням в контейнер поперед-
ньо витримують у водному розчині вітального бар-
вника нейтрального червоного, а після вміщення

контейнера з тестовим живим біологічним об'єктом у досліджуване водне середовище і заповнення його водою з цього досліджуваного середовища у контейнер додатково вводять, будь-яким відомим способом, розчин будь-якого алкалоїду, після чого ведуть спостереження за спектральними характеристиками розчину у контейнері, фіксуючи наявність або відсутність появи червоного відтінку у кольорі розчину в контейнері протягом 4 годин, та при відсутності проявів червоного відтінку діагностують наявність токсичних речовин у досліджуваному водному середовищі.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що, з метою покращення умов вимірювання спектральних параметрів розчину у контейнері, частину водного розчину у контейнері, за спектральними характеристиками якої здійснюють діагностику токсичності водного середовища, відокремлюють від вміщених у контейнер тестових живих біологічних об'єктів, не перешкоджаючи водообміну.

3. Спосіб за п. 1 або п. 2, який **відрізняється** тим, що як тестовий живий біологічний об'єкт використовують нитчасті водорості, стан яких оцінюють за співвідношенням вмісту в них пігментів каротину та хлорофілу.

Корисна модель відноситься до екології, до способів дослідження стану природного водного середовища і може бути застосована, зокрема, при експрес-оцінці токсичності, зокрема - гострої токсичності, води.

Відомі способи дослідження стану (зокрема - токсичності) водного середовища, які ґрунтуються на фіксації реакції живих тест-об'єктів, приміром: фіксації на протязі певного часу спостережень, змін характеру пігментації шкіри на спині в популяціях безхвостих амфібій, асиметрії форми та розмірів пігментованих плям, схожих морфологічних ознак риб тощо [1].

Недоліком цих способів є те, що вони або взагалі не дозволяють здійснювати дистанційну діагностику токсичності на великих акваторіях, або створюють для того досить великі складнощі.

Найближчим аналогом є спосіб дослідження стану навколишнього середовища [2], що включає вміщення у досліджуване водне середовище контейнера з тестовим живим біологічним об'єктом, як з тестовою водною мікроекосистемою.

При виконанні зазначеного способу до контейнера вміщують, або виконують як єдине ціле з контейнером, відбивач світла, таким чином, що відбите цим відбивачем світло проходить через шар водного розчину вітального барвника метиленового синього у внутрішньому об'ємі контейнера, після вміщення контейнера у досліджуване водне середовище і заповнення його водою з цього досліджуваного середовища контейнер герметично зачиняють і ведуть спостереження за спектральними параметрами світла, яке відбивається від відбивача, фіксують наявність або відсутність зникнення з часом синього кольору відбивача і у випадку від-

(13) U

(11) 61159

(19) UA

сутності на протязі доби зникнення синього кольору відбивача діагностують наявність у досліджуваному водному середовищі токсичних речовин.

Недоліком даного способу є те, що він може давати помилкові результати за умов, коли наявний у водному середовищі токсикант за своєю хімічною природою є сильним відновником, відновлювана дія якого буде сильніша за окислювальну дію розчиненого у воді кисню, тож зміна синього кольору контейнера на білий буде наявна і у токсичному середовищі.

В корисній моделі, що пропонується, ставиться задача створення можливості діагностування гострої токсичності водного середовища також і за умов, коли наявний у водному середовищі токсикант за своєю хімічною природою є сильним відновником.

Для вирішення поставленої задачі у способі обраному за найближчий аналог [2], що включає вміщення у досліджуване водне середовище контейнера з тестовим живим біологічним об'єктом, згідно корисної моделі, тестовий живий біологічний об'єкт перед вміщенням в контейнер попередньо витримують у водному розчині вітального барвника нейтрального червоного, а після вміщення контейнера з тестовим живим біологічним об'єктом у досліджуване водне середовище і заповнення його водою з цього досліджуваного середовища у контейнер додатково вводять, будь-яким відомим способом, розчин будь-якого алкалоїду, після чого ведуть спостереження за спектральними характеристиками розчину у контейнері, фіксуючи наявність або відсутність появи червоного відтінку у кольорі розчину в контейнері на протязі 4 годин, та при відсутності проявів червоного відтінку діагностують наявність токсичних речовин у досліджуваному водному середовищі.

З метою покращання умов вимірювання спектральних параметрів розчину у контейнері, частину водного розчину у контейнері, за спектральними характеристиками якої здійснюють діагностику токсичності водного середовища, відокремлюють від вміщених у контейнер тестових живих біологічних об'єктів, не перешкоджаючи водообміну.

Крім того рекомендовано у якості тестового живого біологічного об'єкту використовувати нитчасті водорості, стан яких оцінюють за співвідношенням вмісту в них пігментів каротину та хлорофілу.

Спосіб, що заявляється, здійснюють таким чином.

Будь-яким відомим засобом (наприклад - за допомогою безпілотних літальних апаратів) вміщують у досліджуване водне середовище контейнери з тестовим живим біологічним об'єктом, попередньо витриманим у водному розчині вітального барвника нейтрального червоного. Після вміщення контейнера у досліджуване водне середовище і заповнення його водою з цього досліджуваного середовища до контейнера будь-яким відомим способом (наприклад - розбиванням спеціальної скляної ампули) додають розчин будь-якого алкалоїду і ведуть спостереження за спектральними параметрами води у контейнері. Алкалоїди витісняють нейтральний червоний з живої

біомаси. Цей ефект не спостерігається для мертвої біомаси (зокрема - вбитої токсинами, що їх містить досліджуване водне середовище). Тому - якщо за результатами спостережень за спектральними параметрами води у контейнері буде зафіксована відсутність на протязі 4 годин появи червоного відтінку у кольорі розчину в контейнері, діагностують наявність у досліджуваному водному середовищі токсичних речовин, здатних бути причиною гострої токсичності, за наявності такого червоного відтінку діагностують відсутність гострої токсичності у досліджуваному водному середовищі.

Для покращання умов вимірювання спектральних параметрів розчину у контейнері, та частина контейнера, в якій розміщено тестовий живий біологічний об'єкт, може бути відокремлена від частини, в якій розміщений розчин, за спектральними характеристиками якого здійснюється діагностика токсичності водного середовища. Відокремлення здійснюється, таким чином, що це не перешкоджало водообміну, наприклад за допомогою сіточки.

Найкраще підходять для реалізації запропонованого способу досить примітивні тестові живі організми, які не мають спеціалізованих органів (нирки тощо) для виведення таких непотрібних для організму речовин як використовуваний у даному способі вітальний барвник нейтральний червоний і, відповідно, здатні утримувати його у своєму тілі досить довгий час. Водночас бажано використовувати організми такого розміру, щоб можна було найпростіше (наприклад - за допомогою сіточки) здійснювати дії для відокремлення частини контейнеру, в якій розміщують тестовий живий біологічний об'єкт. Цим вимогам до використання у якості тестового живого біологічного об'єкту досить добре відповідають нитчасті водорості. Стан цих водоростей (наявність досить великої живої біомаси) досить просто оцінюється за співвідношенням серед їхніх пігментів каротину та хлорофілу.

З метою покращання умов застосування дистанційних засобів отримання інформації щодо токсичності водного середовища, оцінку спектральних параметрів розчину у контейнері можна здійснювати шляхом цифрового фотографування з обчислюванням відношення R-параметра до G та B параметрів.

Можливість за допомогою запропонованого способу дистанційно діагностувати гостру токсичність водного середовища підтверджується наведеним нижче прикладом його експериментального здійснення у серпні 2010 року на березі тимчасових водоймищ у Саржиному яру на території міста Харкова. Статистична достовірність ефектів, що спостерігалися у експерименті, оцінювалася за точним методом Фішера [4] для якісних ефектів. Йдеться про якісний ефект реєстрації відмінностей спектральних параметрів водного розчину у контейнерах, занурених у акваріум з гострою токсичністю або ж - у нетоксичне водне середовище.

Приклад здійснення.

Досліджуване водне середовище імітувалося пластиковими посудинами, місткістю 7,5 л, заповненими водою вищезгаданих тимчасових водой-

миш. У експерименті до води додавався формалін, до створення його 10-ти відсоткової концентрації. (Після закінчення експерименту цей розчин було вилито у розташовану поблизу від експериментальної площадки ляду каналізаційного колектора). Контрольне водне середовище імітувалося аналогічно, але без додавання формальдегіду. Температура повітря під час експериментів коливалася від 21 до 28°C.

Функції тестового живого біологічного об'єкту виконували нитчасті водорості *Cladophora* sp., взяті з бентосу вищезгаданих тимчасових водоймищ. Водорості бралися там, де динаміка зміни їхнього кольору, визначала збільшення кількості хлорофілу, що, згідно з аналогією з Маргалефовою моделлю sukcesії [3] свідчить про зростання продукції живої біомаси.

Біомасу нитчастих водоростей, кількість в 1 г, попередньо витриману 1 добу у розчині нейтрального червоного концентрації 1:200000, вміщували у пластикові контейнери, об'ємом 50 мл, з шийками діаметром 12 мм. Для фіксації водоростей і запобігання засміченню контейнерів нижня частина контейнерів і їхні шийки з вхідними отворами були відокремлені марлевою сіточкою - відповідно:

від верхньої частини і від досліджуваного водного середовища. Через 1 годину після занурення контейнерів у імітоване досліджуване водне середовище до контейнерів вводили кофеїн-бензоат натрію до створення концентрації 1,6 мг/л, через 5 годин, візуально і за допомогою цифрового фотографування з відстані 100 м, фіксували колір води у верхній частині контейнерів. Цифрове фотографування здійснювали фотокамерою "Canon" з подальшою комп'ютерною обробкою зображень за допомогою програмного пакету Matlab (модуль Image Processing Toolbox). Було проведено по 7 таких спостережень у контрольному (без токсиканта) та експериментальному (у середовищі з 10-ти відсотковою концентрацією формаліну) варіантах. Візуально поява червоного відтінку була зафіксована лише у всіх контрольних варіантах.

Для об'єктивізації результатів такого спостереження проводили також цифрове фотографування.

Різниця у результатах цифрового фотографування розчину у верхній частині контейнера для експериментальних (з додаванням токсиканту) і контрольних (без додавання токсиканту) варіантів досліджень презентована у таблиці.

Таблиця

Номер спостереження	R	G	B	R/(G+B)	Наявність токсичності досліджуваного водного середовища
1	198	169	141	0,64	Токсичність наявна
2	200	167	153	0,62	-"
3	199	170	139	0,64	-"
4	201	168	142	0,64	-"
5	200	166	155	0,62	-"
6	199	170	142	0,64	-"
7	198	170	140	0,64	-"
8	204	150	82	0,88	Токсичність відсутня
9	205	152	79	0,88	-"
10	200	150	80	0,87	-"
11	206	151	83	0,87	-"
12	204	149	82	0,88	-"
13	201	150	79	0,87	-"
14	204	148	82	0,88	-"

Наявність чи відсутність червоного відтінку розчину визначається відношенням значення R-параметра зображення на цифровій фотографії до суми значень G і B параметрів. Як видно з таблиці, це відношення у всіх експериментальних (з токсикантом) варіантах не перевищує 0,64, а в усіх контрольних (без токсиканта) варіантах - перевищує 0,64, і навіть більші значення, що й визначає червоний відтінок води у контролі та відсутність такого відтінку у експерименті.

Незважаючи на малий розмір вибірок точний метод Фішера для якісних ефектів [4] дозволяє визначити у контролі, у порівнянні з експериментом, статистично достовірну ($p < 0,05$) перевагу ймовірності вияву протягом 4 годин ефекту зміни спектральних параметрів води (показником чого є відповідна, зазначена вище, різниця у відношенні

значення R-параметра зображення на цифровій фотографії до суми значень G і B параметрів).

Таким чином, наведений приклад використання заявленого способу свідчить про принципову можливість реалізації, з його використанням, дистанційного визначення локалізації на великих площах важкодоступної місцевості джерел гострої токсичності. Наприклад таких, що утворилися внаслідок техногенних катастроф, на зразок тієї, що мала місце восени 2010 року на алюмінієвому заводі в Угорщині. Малий об'єм використаних у даному прикладі контейнерів створює можливості для розробки компактних зондів для дистанційного визначення гострої токсичності, засобами доставки яких можуть стати безпілотні літальні апарати. Такий засіб доставки у порівнянні, наприклад з гелікоптерами, значно зменшує витрати на проведення операцій по ліквідації наслідків техногенних

катастроф, що можуть стати причиною утворення джерел гострої токсичності на великих площах важкодоступною місцевості.

Джерела інформації:

1. Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур). - Москва 2003 г. с. 17-22.

2. Спосіб дослідження токсичності водного середовища. Патент України на корисну модель N 28938, зареєстр. 25.12.07, Бюл. № 21.

3. Одум Ю. Основы экологии: перевод с англ., 3-е издание. - М.: Мир 1975 с. 84.

4. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. - М.: Медицина, 1978, с. 81, 223-228.