

БИОТЕХНОЛОГИИ

УДК 628.356+574.64

А. В. Игнатенко

Белорусский государственный технологический университет

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЕТОДОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Проведена сравнительная оценка чувствительности определения тяжелых металлов (ТМ) в водных средах с помощью методов биотестирования выживаемости и подвижности клеток микроводоросли *E. gracilis*, а также тепловыделения бактерий *B. subtilis* и их протопластов.

Показано, что токсичность ТМ при биотестировании подвижности и выживаемости клеток *E. gracilis* снижается в ряду $Cd^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$. Тест-культура клеток *E. gracilis* обладает чувствительностью к ТМ на уровне $10^{-10}-10^{-7}$ М, что значительно превышает их ПДК. Для экологического мониторинга уровня загрязненности водных сред ТМ и их детоксикации лучше использовать тест подвижности клеток, так как он обладает более высокой чувствительностью к малым концентрациям ТМ и меньшей длительностью анализа (15 мин), чем тест на выживаемость клеток (24 ч).

Анализ эффективности детоксикации сточных вод (СВ) г. Орши методом биотестирования подвижности клеток показал, что она составляет 76,8%.

Использование протопластов бактерий *B. subtilis* позволяет повысить чувствительность обнаружения токсичных ТМ на 2 порядка по сравнению с исходными бактериями и на порядок по сравнению с методом биотестирования подвижности клеток *E. gracilis*.

Биотестирование двигательной активности клеток микроводоросли *E. gracilis* или тепловыделения протопластов бактерий дает возможность наблюдать как активирующий, ингибирующий, так и токсичный эффекты в зависимости от дозы ТМ. Это позволяет повысить чувствительность и сократить длительность биологического мониторинга безопасности и качества детоксикации сточных вод очистных сооружений.

Ключевые слова: тяжелые металлы, токсичность, биотестирование, чувствительность, клетки микроводоросли, подвижность, выживаемость, бактерии, протопласти, тепловыделение.

A. V. Ignatenko

Belarusian State Technological University

COMPARATIVE ANALYSES OF SENSITIVITY FOR METHODS OF HEAVY METALS TOXICITY BIOTESTING

It was described a comparative estimation of sensitivity of heavy metals (HM) determination in water media by biotesting methods of survival and motility of unicell organism microalgae *E. gracilis* and heat production of bacteria *B. subtilis* and their protoplasts.

It was shown, that toxicity of heavy metals at biotesting of survival and motility of *E. gracilis* cells are decreased in the row $Cd^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$. Test-culture *E. gracilis* has sensitivity to the HM at the level of $10^{-10}-10^{-7}$ M, that much lower than limited level of their concentration. For ecological monitoring of HM in water media and their detoxification is better to use the motility test because it has higher sensitivity to HM and lower time for testing (15 min) instead of 24 h in survival test.

Analysis of waste water treatment at Orsha station by biotesting of *E. gracilis* cell's motility showed that the efficiency of water detoxification was 76.8%.

Application of bacteria *B. subtilis* protoplasts for biotesting of toxic HM let to increase the sensitivity of their determination at one – two levels in comparison with bacterial and microalgae cells.

Biotesting of *E. gracilis* cells motion activity or heat production of bacterial protoplast makes it possible to observe activation, inhibition or toxic effects depending on dose of HM. It allows to increase the sensitivity and decrease the duration of biological monitoring, to control the quality of detoxification and safety of water at waste water treatment plants.

Key words: heavy metals, toxicity, biotesting, sensitivity, microalgae, motility, survival, bacteria, protoplasts, heat production.

Введение. Сброс в окружающую среду со сточными водами опасных и устойчивых к разрушению ксенобиотиков приводит к их накоплению в низших организмах и передаче по трофическим путям растениям, животным и человеку.

Одними из опасных и часто встречаемых загрязнителей сточных вод (СВ) являются тяжелые металлы (ТМ) и их соединения. ТМ не разрушаются в природе, а перераспределяются между свободной и связанной формами, обладающими разной степенью токсичности для живых организмов. Наиболее активные ТМ наряду с другими экотоксикантами обладают абиогенными свойствами при концентрациях 100–1 мкг/л и ниже [1].

Оценка качества и безопасности окружающей среды является одним из актуальных направлений биоаналитики.

Показатель токсичности служит основной характеристикой экологической безопасности сточных вод и оценки эффективности работы очистных сооружений.

При экологическом контроле токсичности СВ решается ряд экспериментальных задач: обнаружение, идентификация, количественное определение содержания загрязнителей, оценка уровня их опасности.

Существует два основных подхода для решения данных задач – физико-химический и биологический. В настоящее время наиболее широко используется физико-химический подход. К его недостаткам относится невозможность оценить общий уровень опасности сред с большим количеством загрязнителей, а также высокая стоимость анализов, которая для отдельных супертоксикантов (диоксины) может достигать 2 тыс. долл. США/анализ.

Достоинством биологического подхода является способность быстрого и дешевого обнаружения вредных загрязнителей и оценка уровня безопасности среды. К его недостаткам относится сложность идентификации и количественной оценки содержания опасных веществ.

Создание простых и дешевых экспресс-методов экологического контроля уровня загрязненности СВ и оценки эффективности их очистки является одним из важных направлений прикладной экобиотехнологии и биоаналитики.

Биотестирование – один из простых и доступных способов обнаружения присутствия опасных веществ в СВ [2].

Для его использования на практике необходимо предварительно провести выбор тест-культуры, тест-функции и дешевого способа регистрации анализируемого показателя в изучаемом объекте.

Для биотестирования качества и безопасности СВ и оценки эффективности их очистки целесообразнее использовать одноклеточные организмы. Они удобны для применения, проявляют более высокую чувствительность к различным ксенобиотикам, по сравнению с многоклеточными организмами, быстрее размножаются и их использование на практике менее затратно по сравнению с животными и растениями.

Тест-организмы должны отвечать ряду требований, включающих: доступность, легкость культивирования, непродолжительный жизненный цикл развития, высокую чувствительность.

В качестве одноклеточных тест-культур часто применяют эукариотические и прокариотические микроорганизмы – простейшие, микроводоросли, бактерии. Их использование позволяет охарактеризовать качество и безопасность СВ на всех стадиях работы очистных сооружений, тогда как биотестирование с помощью многоклеточных организмов (рыбы, дафнии и др.) применяется при малых концентрациях токсикантов, например на заключительных стадиях водоочистки, из-за их гибели в неочищенных СВ.

Одним из важных вопросов биотестирования безопасности СВ является выбор биомаркерных функций и ответных реакций клеток на отдельные загрязнители.

Основные критерии, которым должна отвечать тест-реакция: достаточная чувствительность к изучаемому фактору; экспрессность анализа; интегральность ответа; отсутствие необходимости в специальном оборудовании и высокой квалификации персонала.

В качестве тест-функции для диагностики присутствия опасных веществ чаще всего используется показатель гибели клеток, связанный с индексом токсичности СВ (T_1 , %):

$$T_1 = (N_0 - N_t) / N_0 \cdot 100\%, \quad (1)$$

где N_0 , N_t – начальное и конечное число жизнеспособных клеток.

О степени опасности веществ судят по величине летальной дозы LD_{50} , вызывающей гибель 50% тест-культуры. В этом случае гибель организмов наблюдается при больших концентрациях и времени воздействия токсичных веществ.

Это не всегда удобно для текущего экспресс-контроля процессов водоочистки, поэтому наряду с летальной дозой применяются эффективные дозы (ED_{20} , ED_{50} и др.) и индексы токсичности, определяемые по изменению интегральных показателей, характеризующих жизнеспособность тест-организмов: дыхание, тепловыделение, подвижность, биолюминесценция и др.

Индекс токсичности в этом случае определяется как

$$T_2 = (P_o - P_t) / P_o \cdot 100\%, \quad (2)$$

где P_o , P_t – значения показателей жизнеспособности клеток до и после воздействия анализируемого фактора в течение определенного времени.

Индекс токсичности T_2 характеризует начальные процессы нарушения жизнеспособности и гибели клеток, проявляющиеся при меньших концентрациях токсикантов и за более короткие промежутки времени.

Для сокращения длительности анализа в этом случае необходимо подбирать тест-организмы и тест-функции с максимальной чувствительностью к действующему фактору и минимальным временем его проявления.

Устойчивое обнаружение опасных ксенобиотиков методом биотестирования возможно, если порог чувствительности тест-культур как минимум на порядок ниже, чем значения ПДК веществ. Это может быть основным критерием отбора тест-объектов по чувствительности.

Для выбора способа водоочистки и контроля детоксикации СВ желательно использовать методы биотестирования с длительностью анализа менее 0,5 ч, что может служить критерием отбора методов по длительности измерений.

Основная часть. Цель работы – выбор метода биотестирования низких концентраций токсичных металлов в водных средах.

Объектом исследования служили модельные растворы ТМ: сульфатов Zn^{2+} , Cd^{2+} , ацетата Pb^{2+} , в концентрациях 10^{-11} – 10^{-1} М, а также СВ очистной станции г. Орши (рН 7,2–7,6), загрязненные ТМ, на разных стадиях водоочистки.

Пробы СВ отбирали в соответствии с ПНД Ф 12.15.1.-08 «Методические указания по отбору проб для анализа сточных вод». Отобранные образцы фильтровали через бумажный фильтр и использовали для биотестирования их токсичности.

Уровень токсичности анализируемых образцов определяли методами биотестирования подвижности, выживаемости и тепловыделения клеток и протопластов.

В качестве тест-объектов использовали: трехсуточную культуру клеток микроводоросли *E. gracilis* и суточную культуру бактерии *B. subtilis* 168 из коллекции кафедры биотехнологии и биоэкологии БГТУ.

Клетки микроводоросли выращивали на минеральной питательной среде Лозино-Лозинского на свету при освещенности 1000 лк [3].

Суточную культуру бактерий *B. subtilis* 168 получали выращиванием в полноценной пеп-

тонно-дрожжевой питательной среде при рН 7,2 и доводили до логарифмической фазы роста.

Поскольку жизнеспособность клеток зависит от времени воздействия ксенобиотика и его концентрации, для выбора удобного способа обнаружения токсичных ТМ была проведена оценка чувствительности методов биотестирования ТМ по выживаемости и подвижности клеток *E. gracilis* в зависимости от концентрации ТМ.

Выживаемость клеток *E. gracilis* определяли после 24 ч выдерживания в растворах ТМ заданной концентрации, подсчета количества подвижных и неподвижных клеток под микроскопом Бимам Р-11 и расчета индекса токсичности T_1 по формуле (1).

Биотестирование подвижности клеток *E. gracilis* проводили, как описано ранее [3].

Индекс токсичности T_2 рассчитывали по формуле (2) с учетом, что P_o , P_t – характеризуют подвижность тест-культуры клеток в контрольной и анализируемой средах после 15 мин выдержки в них.

Для получения протопластов бактерий *B. subtilis* клетки осаждали центрифугированием при 6000 об./мин в течение 10 мин.

Осадок переносили в жидкую гипертоническую среду (ГС), в качестве которой использовали глюкозосолевую среду М9Г с добавкой 0,6 М сахарозы в качестве осмотического стабилизатора.

Протопласти ГР(+) бактерий *B. subtilis* получали путем обработки клеток в логарифмической фазе роста раствором лизоцима в ГС в течение 30 мин при 30°C, после чего их отмывали от реагентов центрифугированием в ГС при 6000 об/мин, 10 мин [4].

Для анализа влияния токсичных ТМ на клетки и протопласти бактерий к 0,9 мл тест-культур добавляли 0,1 мл соли ТМ и регистрировали кинетику тепловыделения образцов на микрокалориметре МКМ-Ц при 30°C.

Для количественной характеристики порога чувствительности тест-культур к ТМ использовали значения показателя EC_{min} , которое определяли при уровне изменения подвижности, выживаемости или тепловыделения клеток, равном ±20% от измеряемой величины в контрольной среде.

Полученные данные обрабатывали статистически в трехкратной повторности с использованием программного обеспечения Microsoft Excel.

Микроводоросль *E. gracilis* является одним из широко распространенных и доступных гидробионтов, обладающих миксотрофным способом питания, и проявляющих высокую чувствительность к тяжелым металлам.

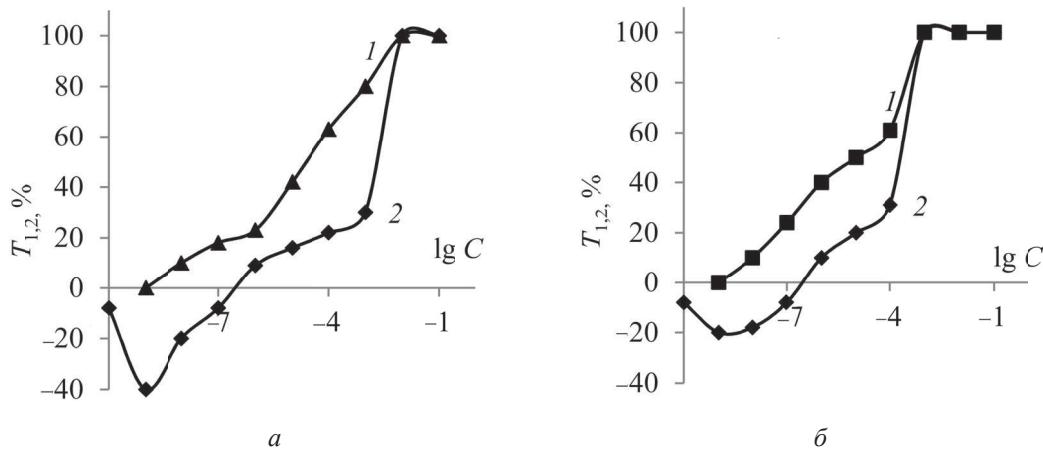


Рис. 1. Биотестирование токсичности ионов Pb^{2+} (а) и Cd^{2+} (б) на клетках *E.gracilis*:
1 – по выживаемости; 2 – по подвижности клеток

Гибель клеток в присутствии токсичных веществ зависит от дозы влияющего фактора и определяется в первом приближении зависимостью

$$N_t = N_0 \cdot \exp(-k \cdot C \cdot t), \quad (3)$$

где k – удельная константа скорости гибели клеток; C – концентрация токсичного вещества; t – время его действия.

На рис. 1 представлены зависимости изменения индексов токсичности T_1 и T_2 от концентрации ионов Pb^{2+} (а) и Cd^{2+} (б) в полулогарифмических координатах.

Как видно из рис. 1 а, при биотестировании подвижности и выживаемости клеток изменение индексов токсичности T_1 , T_2 для ионов Pb^{2+} нелинейно зависело от $\lg C$ в изучаемом диапазоне концентраций и имело различный характер проявления.

Для выживаемости тест-культуры *E. gracilis* наблюдался двухстадийный характер изменения индекса T_2 от $\lg C$ (рис. 1 а, кривая 1). При концентрациях $Pb^{2+} 10^{-9}$ – 10^{-6} М отмечалось увеличение числа погибших клеток на 20%. При концентрациях выше 10^{-6} М количество погибших клеток резко возрастало и линейно зависело от $\lg C$ в диапазоне концентраций 10^{-6} – 10^{-2} М.

При анализе подвижности *E. gracilis* наблюдался трехстадийный характер действия ТМ (рис. 1 а, кривая 2). При концентрациях $Pb^{2+} 10^{-10}$ – 10^{-7} М отмечался эффект активации

движения клеток, что указывает на их переход в стрессовое состояние. При этом в диапазоне концентраций $Pb^{2+} 10^{-10}$ – 10^{-9} М гибели клеток *E. gracilis* не наблюдалось.

Дальнейшее увеличение концентрации Pb^{2+} в водной среде от 10^{-6} до 10^{-3} М приводило к снижению подвижности, изменению характера движения клеток с поступательного на вращательное. Концентрации Pb^{2+} выше 10^{-3} М приводили к резкому снижению подвижности *E. gracilis* и массовой гибели гидробионта.

Аналогичные данные были получены для ионов Cd^{2+} (рис. 1, б), с той разницей, что эффект активации подвижности клеток наблюдался слабее и эффект гибели клеток был выражен сильнее, чем для ионов Pb^{2+} , в области концентраций 10^{-9} – 10^{-6} М, а эффект резкого падения подвижности тест-культуры отмечался при более низких концентрациях (10^{-4} М).

Полученные результаты оценки токсичности ТМ по их влиянию на подвижность клеток *E. gracilis* представлены в табл. 1. Анализ табл. 1 показывает, что ионы тяжелых металлов можно расположить в ряд по степени изменения токсичности: $Cd^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$.

Наибольшую чувствительность клетки *E. gracilis* проявляли к ионам Cd^{2+} .

В табл. 2 приведены результаты оценки токсичности ТМ по выживаемости клеток *E. gracilis*.

Таблица 1

Влияние ионов тяжелых металлов на показатели EC_{\min} , EC_{50} , EC_{100} при биотестировании подвижности клеток *E. gracilis*

Вид ТМ	ПДК, мг/л [1]	Концентрации ТМ, моль/л		
		EC_{\min}	EC_{50}	EC_{100}
Zn^{2+}	0,05	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^{-8}$	$(5,1 \pm 0,3) \times 10^{-2}$	$(7,2 \pm 0,5) \times 10^{-2}$
Pb^{2+}	0,01	$(5,3 \pm 0,3) \times 10^{-10}$	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^{-3}$	$(5,3 \pm 0,4) \times 10^{-3}$
Cd^{2+}	0,001	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^{-9}$	$(5,7 \pm 0,5) \times 10^{-4}$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^{-3}$

Таблица 2

**Влияние ионов тяжелых металлов на показатели LC_{\min} , LC_{50} , LC_{100}
при биотестировании выживаемости клеток *E. gracilis***

Вид ТМ	ПДК, мг/л [1]	Концентрации ТМ, моль/л		
		LC_{\min}	LC_{50}	LC_{100}
Zn^{2+}	0,05	$(5,1 \pm 0,3) \times 10^{-7}$	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^{-4}$	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^{-3}$
Pb^{2+}	0,01	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^{-5}$	$(1,9 \pm 0,2) \times 10^{-3}$
Cd^{2+}	0,001	$(6,0 \pm 0,5) \times 10^{-8}$	$(1,6 \pm 0,2) \times 10^{-5}$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^{-3}$

Ряды изменения токсичности, полученные двумя методами, совпадают. Метод выживаемости клеток более чувствителен к высоким концентрациям ТМ, тогда как изменение подвижности клеток проявляет большую чувствительность к низким концентрациям ТМ.

Использованные методы биотестирования токсичности ТМ по подвижности и выживаемости клеток *E. gracilis* указывают на их достаточно высокую чувствительность к ионам ТМ, регистрируемую на уровне 10^{-10} – 10^{-7} М.

Следует отметить, что метод анализа подвижности клеток характеризует состояние их биоэнергетики и отражает начальные процессы воздействия ионов ТМ на клетки и включение систем их reparации, в то время как тест на выживаемость определяет конечное состояние всех систем жизнедеятельности клеток *E. gracilis*. В этой связи он более точно отражает токсичность водной среды. Однако для экологического мониторинга уровня загрязненности водных сред лучше использовать тест подвижности клеток. Он обладает более высокой чувствительностью к низким концентрациям ТМ и меньшей длительностью анализа (15 мин), тогда как тест на выживаемость клеток требует 24 ч. Кроме того, метод биотестирования подвижности клеток *E. gracilis* позволяет определить активирующий, ингибирующий и токсичный эффекты в зависимости от дозы ТМ.

Наряду с методом биотестирования токсичности ТМ по подвижности и выживаемости клеток микроводоросли *E. gracilis* в работе был также проведен анализ чувствительности бактерий и протопластов к токсичным ТМ методом биокалориметрии [4].

Биокалориметрия – один из немногих универсальных методов анализа жизнедеятельности живых организмов, позволяющих определять присутствие опасных веществ в анализируемых средах, независимо от их агрегатного состояния, а также изучать механизмы действия данных веществ на всех уровнях организации живых организмов.

Энергетический метаболизм бактерий является наиболее чувствительной мишенью действия ксенобиотиков на клетки, поскольку их

система биоэнергетики расположена на бактоплазматической мембране. Удаление клеточной стенки бактерий делает их еще более уязвимыми к опасным веществам.

Поскольку тепловыделение организма характеризует степень их жизнеспособности, это позволяет определить индекс токсичности T_3 по формуле (2), с учетом, что P_o , P_i характеризуют мощность тепловыделения клеток или протопластов до и после воздействия ТМ.

На рис. 3 приведены результаты сравнительного анализа индекса токсичности ионов Cd^{2+} при действии на протопласти и клетки *B. subtilis* 168. Как видно из рис. 3, протопласти бактерий *Bacillus subtilis* обладают на два порядка более высокой чувствительностью к ионам Cd^{2+} , чем исходные клетки, и на порядок чувствительнее метода биотестирования подвижности клеток *E. gracilis* (табл. 1). Метод биокалориметрии позволил зарегистрировать эффект активации тепловыделения протопластов при концентрации $Cd^{2+} 10^{-11}$ – 10^{-9} М.

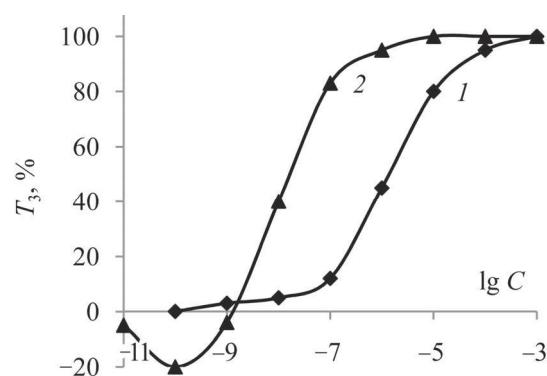


Рис. 2. Зависимость изменения индекса токсичности T_3 от логарифма концентрации ионов Cd^{2+} для клеток (1) и протопластов (2) *B. subtilis* 168

Дальнейшее увеличение содержания ТМ в водной среде до 10^{-5} М приводило к снижению уровня тепловыделения протопластов и их гибели.

Высокая чувствительность протопластов к ионам ТМ указывает на целесообразность их применения в биоаналитике в качестве простого

и удобного тест-объекта для контроля процессов очистки СВ от токсичных ТМ.

Длительность биокалориметрического метода анализа – 20 мин. Он, как и метод биотестирования подвижности клеток, может быть использован для экспресс-оценки токсичности СВ и их детоксикации. Вместе с тем метод биокалориметрии требует специального оборудования, что снижает его практическую ценность по сравнению с методом биотестирования подвижности клеток.

В табл. 3 приведены результаты оценки токсичности СВ очистных сооружений г. Орши, загрязненных Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} (0,02–0,30 мг/дм³), методом биотестирования подвижности клеток.

Таблица 3

Оценка токсичности сточных вод на очистных сооружениях г. Орши методом биотестирования подвижности клеток *E. gracilis* (pH 7,6)

№	Образцы	T, %
1	Вход на очистные сооружения	$39,6 \pm 1,8$
2	Первичный отстойник	$37,4 \pm 2,5$
3	Аэротенк	$22,1 \pm 2,3$
4	Вторичный отстойник	$9,2 \pm 0,9$

Как видно из табл. 3, токсичность СВ г. Орши изменяется от 39,6% до 9,2%. При $T \leq 10\%$, СВ могут рассматриваться как нетоксичные; при $10\% \leq T \leq 20\%$ – как слаботоксичные; при $20\% \leq T \leq 50\%$ – как среднетоксичные; при $T > 50\%$ – как высокотоксичные [3]. Полученные данные характеризуют очищенные СВ как нетоксичные и допустимые для сброса в окружающую среду. Эффективность детоксикации СВ г. Орши составляет 76,8%. Основной вклад в детоксикацию СВ вносят аэротенк и вторичный отстойник.

Полученные результаты указывают на то, что тест-культура и метод подвижности клеток

E. gracilis могут быть использованы для оценки уровня токсичности СВ городских очистных сооружений.

Заключение. В работе проведен сравнительный анализ чувствительности обнаружения отдельных ТМ с помощью методов биотестирования подвижности и выживаемости тест-культуры клеток микроводоросли *E. gracilis*, а также тепловыделения бактерий *B. subtilis* и их протопластов.

Показано, что клетки микроводоросли *E. gracilis* обладают чувствительностью к изученным ТМ на уровне 10^{-10} – 10^{-7} М, что значительно превышает их ПДК.

При использовании в качестве тест-функции подвижности клеток длительность анализа составляет 15 мин, а в случае биотестирования выживаемости клеток – 24 ч.

Анализ процессов очистки СВ на очистных сооружениях г. Орши методом биотестирования подвижности клеток *E. gracilis* показал, что эффективность детоксикации СВ составляет 76,8%.

Двигательная активность клеток является одним из простых и информативных показателей, реагирующих на присутствие токсичных ТМ в водной среде при низких концентрациях и на ранних стадиях их воздействия.

Использование протопластов бактерий *B. subtilis* позволяет повысить чувствительность обнаружения токсичных ТМ на 2 порядка по сравнению с исходными бактериями и на порядок по сравнению с методом биотестирования двигательной активности микроорганизмов.

Биотестирование подвижности клеток микроводоросли *E. gracilis* и тепловыделения протопластов бактерий *B. subtilis* дает возможность наблюдать как активирующий, ингибирующий, так и токсичный характер действия ТМ в зависимости от их дозы. Это позволяет повысить чувствительность и сократить длительность анализа безопасности СВ и оценки качества их детоксикации на очистных сооружениях.

Литература

1. Афанасьев Ю. А., Фомин С. А. Мониторинг и методы контроля окружающей среды: учеб. пособие. В 2 ч. Ч. 1. М.: МНЭПУ, 1998. 208 с.
2. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / под ред. О. П. Мелеховой, Е. И. Егоровой. М.: Издат. центр «Академия». 2010. 288 с.
3. Сазановец М. А., Игнатенко А. В. Анализ детоксикации водных сред методом биотестирования // Труды БГТУ. 2014. № 4: Химия, технология орган. в-в и биотехнология. С. 179–182.
4. Игнатенко А. В. Сенсорный контроль качества пищевых продуктов. Лабораторный практикум. Минск: БГТУ, 2008. 186 с.

References

1. Afanas'yev Yu. A., Fomin S.A. Monitoring i metody kontrolya okruzhayushchey sredy [Monitoring and methods of environment control]. Moscow, MNEPU Publ., 1998. 208 p.

2. Melekhova O. P., Egorova E. I. *Biologicheskiy control' okruzhayushchey sredy: bioindikatsiya i biotestirovaniye* [Biological control of environment: bioindication and biotesting]. Moscow, Izd. tsentr "Academiya" Publ., 2010. 288 p.
3. Sazanovets M. A., Ignatenko A. V. Detoxification analysis of aquatic environment with biological testing method. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], no. 4: Chemistry, Technology of Organic Substances and Biotechnology, 2014, pp. 179–182 (In Russian).
4. Ignatenko A. V. *Sensornyy control' kachestva pishchevykh produktov. Laboratornyy praktikum* [Sensory control of foodstuff's quality. Laboratory practice]. Minsk, BGTU Publ., 2008. 186 p.

Информация об авторе

Игнатенко Аркадий Васильевич – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии и биоэкологии. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: ignatenko_av@tut.by

Information about the author

Ignatenko Arkadiy Vasil'yevich – PhD (Biology), Associate Professor, Assistant Professor, the Department of Biotechnology and Bioecology. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ignatenko_av@tut.by

Поступила 20.10.2017