

Приборно-методологическое обеспечение биоиндикационного метода оценки токсичности по параметрам оптических свойств хлорофилла

А.Е. Янина

БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» детский технопарк «Кванториум», г. Орёл

А.И. Трофимова

Структурное подразделение БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» детский технопарк «Кванториум», г. Орёл

Е.А. Ветрова

Структурное подразделение БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» детский технопарк «Кванториум», г. Орёл

Научный руководитель: А.Ю. Винокуров, педагог дополнительного образования, структурное подразделение БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» детский технопарк «Кванториум», г. Орёл

Введение. Загрязнение объектов окружающей среды является одним из наиболее актуальных вызовов человечеству. К основным источникам загрязнения можно отнести промышленность, транспорт, добычу полезных ископаемых, сельское хозяйство, энергетику. Загрязнение оказывает отрицательное воздействие на состояние различных объектов окружающей среды и, как следствие, здоровье человека. Решение данных проблем является комплексной задачей, включающей меры по предотвращению воздействия на окружающую среду, очистку, а также контроль загрязнений, которому посвящен данный проект.

В качестве двух принципиально различных подходов к оценке токсичности объектов окружающей среды можно отнести количественный анализ химического состава и метод биотестирования. Первый обладает существенными недостатками, ограничивающими область его применения – дороговизна оборудования и расходных материалов, множественность методик исследования, необходимость весьма значительного персонала для реализации. Биотестирование – один из перспективных инструментов контроля уровня загрязнения – основывается на оценке отклонения состояния анализируемого объекта от нормы по реакции биологического тест-объекта и обладает рядом преимуществ, отличающих его от химико-аналитического контроля, однако не дает информации о концентрации загрязнителей и не определяет, какие именно вещества находятся в пробе. Таким образом, существующие подходы к оценке уровня загрязнения окружающей среды обладают объективными недостатками, что составляет проблему, на решение которой направлен данный проект.

В качестве весьма перспективных тест-объектов рассматриваются способные к фотосинтезу микро- и макроорганизмы, а в качестве сигнала – параметры оптических свойств хлорофиллов. Так, в присутствии тех или иных токсических соединений происходит изменение состояния фотосинтетического аппарата (в том числе изменение спектральных свойств). Регистрация данных изменений может быть положена в основу оценки токсичности методом биотестирования.

Целью проекта является разработка подхода к биотестированию объектов окружающей среды на основе исследования влияния различных факторов на состояние фотосинтетического аппарата различных объектов, а также выделенного из них хлорофилла.

Основная часть. На первом этапе было проверено влияние тяжелых металлов на спектр поглощения хлорофиллом видимого излучения. Для этого мы готовили сток-растворы солей различных тяжелых металлов с концентрацией металлов 10 г/л, смешивали определенный объем приготовленных сток-растворов металлов с экстрактом хлорофилла, получая при этом различные концентрации металлов в каждой пробе (500; 50; 5 и 0,5 мг/л).

Эксперимент проводили при различных условиях (комнатная температура без выдерживания и после 60 минут; нагревание на водяной бане в течение 10 и 20 минут), после чего снимали спектры поглощения хлорофилла после различных типов воздействия при помощи спектрометра Ocean Optics.

Следующий этап – обработка данных. Для каждого спектра рассчитывали высоты пиков на длине волны максимального поглощения. Затем проводили нормирование высоты пиков хлорофилла в присутствии металлов, взяв за 100 % высоту пика чистого хлорофилла.

Для тех же растворов проводили похожий расчет, но уже использовали высоты пиков только на одной длине волны - на максимуме поглощения хлорофилла. Также определяли смещение положения максимума оптической плотности хлорофилла в присутствии металла от максимума поглощения чистого хлорофилла. Такие расчеты были выполнены для хлорофилла в присутствии всех концентраций металлов, которые были использованы в эксперименте (500, 50, 5, 0,5 мг/л).

Выводы. Наибольшие изменения высот пиков происходят при выдерживании проб в течение 60 минут при комнатной температуре. В некоторых случаях схожий результат достигается и при кипячении в течение 10 или 20 минут. Но чем меньше становится концентрация металла, тем слабее отклик, и уже к концентрации 0,5 мг/л он приближается к 100 % хлорофилла. Следовательно, чувствительность метода, основанного на анализе оптической плотности, недостаточно высока, поскольку токсичность для живых организмов, в частности организма человека, многих из этих металлов проявляется при существенно более низком содержании. Таким образом, данный метод может быть применен только для объектов, отличающихся высоким уровнем загрязнения (например, для производственных сточных вод).

В дальнейшем нам предстоит провести ряд экспериментов, позволяющих оценить влияние токсикантов на параметры флуоресценции хлорофилла, так как во многих методах исследования детекция флуоресценции дает большую чувствительность, чем спектрометрия. Кроме того, при анализе флуоресценции можно оценивать целый набор показателей, которые позволят повысить информативность получаемого результата.

Данный проект выполняется в рамках программы «Сириус.Лето».