



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 115829

(13) U

(51) МПК

G01N 33/18 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**(21)** Номер заявики: **у 2016 12161****(22)** Дата подання заявики: **30.11.2016****(24)** Дата, з якої є чинними права на корисну модель:**(46)** Публікація відомостей **25.04.2017, Бюл.№ 8** про видачу патенту:**(72)** Винахідник(и):

Беспалов Юрій Гаврилович (UA),
Висоцька Олена Володимирівна (UA),
Жолткевич Григорій Миколайович (UA),
Носов Костянтин Валентинович (UA),
Печерська Анна Іванівна (UA),
Порван Андрій Павлович (UA)

(73) Власник(и):

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ РАДІОЕЛЕКТРОНИКИ,
пр. Науки, 14, м. Харків, 61166 (UA)

(54) СПОСІБ ДИСТАНЦІЙНОГО БІОЛОГІЧНОГО ТЕСТУВАННЯ НАЯВНОСТІ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА**(57) Реферат:**

Спосіб дистанційного біологічного тестування гострої токсичності водного середовища включає вміщення до досліджуваного водного середовища контейнера з біологічним тест-об'єктом. Вміщення контейнера у досліджуване водне середовище здійснюють з можливістю безпосереднього контакту поверхні води у контейнері з атмосферним повітрям. Частину або всі стінки контейнера повністю виконують прозорими. На стінках двох найбільших граней позначають площину верхньої, середньої та нижньої ділянок, відповідно червоним, синім і зеленим кольором, а саме: верхня ділянка - до глибини 40 мм від поверхні води, середня - від 40 до 80 мм, нижня ділянка - глибше 80 мм. Як біологічний тест-об'єкт вміщують у контейнер легеневих черевоногих равликів біологічного виду Planor barius corneus. Далі дистанційним способом ведуть спостереження за розташуванням равликів у внутрішньому просторі контейнера впродовж відрізу від часу до двох годин. Діагностують наявність гострої токсичності досліджуваного водного середовища за відсутності легеневих черевоногих равликів на середній ділянці у внутрішньому просторі контейнера впродовж більш ніж 30 секунд та відсутність гострої токсичності досліджуваного водного середовища за наявності равликів на середній ділянці.

UA 115829 U

UA 115829 U

Корисна модель належить до екології, до способів дослідження стану водного середовища і може бути застосована, зокрема, для дистанційної діагностики гострої токсичності води.

Відомі способи дослідження стану (зокрема - токсичності) водного середовища, які 5 ґрунтуються на фіксації реакції живих тест-об'єктів, приміром: фіксації впродовж певного часу спостережень змін характеру пігментації шкіри на спині в популяціях безхвостих амфібій, асиметрії форми та розмірів пігментованих плям, схожих морфологічних ознак риб, тощо [Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню ассиметрии морфологических структур). - Москва 2003 г. - С. 17-22].

10 Недоліком цих способів є те, що вони не дозволяють здійснювати діагностику токсичності водного середовища у випадках, коли у водоймищі або водотоку не мешкають живі організми, придатні для використання як біологічні тест-об'єкти, приміром, це може бути у випадку утворення тимчасового водоймища внаслідок витікання, в умовах техногенної катастрофи, води з водогону, очисних споруд або каналізації.

15 Найближчим аналогом є спосіб дистанційного дослідження гострої токсичності водного середовища (Патент України на корисну модель № 63109, публ. 26.09.2011. Бюл. № 18, 2011 р.), що включає вміщення до досліджуваного водного середовища контейнера з біологічним тест-об'єктом. При виконанні зазначеного способу до контейнера спочатку 20 вміщують суміш дріжджів з цукром, або ж - суміш дріжджів з цукром, барвниками та інградієнтами, що сприяють утворенню і довгому збереженню піни, а після вміщення у досліджуване водне середовище контейнер заповнюють водою з того ж водного середовища, а потім впродовж 72 годин ведуть спостереження за спектральними параметрами поверхні води навколо зазначеного контейнера, фіксуючи зміни спектральних параметрів поверхні води, зумовлені появою піни. За наявністю або відсутністю таких змін діагностують, відповідно, 25 відсутність або наявність гострої токсичності у водному середовищі.

Недоліком цього способу є можливість лише одноразового, безпосередньо після внесення у досліджуване водне середовище, використання біологічного тест-об'єкта в контейнері.

Технічною задачею запропонованого рішення є створення можливості неодноразового 30 використання біологічного тест-об'єкта в одному контейнері впродовж більш довгого, до десяти діб, відрізу часу діагностування відсутності гострої токсичності досліджуваного водного середовища.

Ця задача вирішена наступним чином. У способі дистанційного біологічного тестування 35 наявності гострої токсичності водного середовища, що включає вміщення до досліджуваного водного середовища контейнера з біологічним тест-об'єктом, згідно корисної моделі, вміщення контейнера у досліджуване водне середовище здійснюють з можливістю безпосереднього контакту поверхні води у контейнері з атмосферним повітрям, частину або всі стінки контейнера повністю виконують прозорими, на стінках двох найбільших граней позначають площину верхньої, середньої та нижньої ділянок, відповідно червоним, синім і зеленим кольором, а саме: верхня ділянка - до глибини 40 мм від поверхні води, середня - від 40 до 80 мм, нижня ділянка - глибше 40 80 мм, як біологічний тест-об'єкт вміщують у контейнер легеневих черевоногих равликів біологічного виду Planor barius comeus, далі дистанційним способом ведуть спостереження за розташуванням равликів у внутрішньому просторі контейнера впродовж відрізу від часу до 45 двох годин і діагностують наявність гострої токсичності досліджуваного водного середовища за відсутності легеневих черевоногих равликів на середній ділянці у внутрішньому просторі контейнера впродовж більш ніж 30 секунд та відсутність гострої токсичності досліджуваного водного середовища за наявності равликів на середній ділянці.

Спосіб, що заявляється, здійснюють таким чином. Будь-яким відомим способом, наприклад 50 скиданням з безпілотних літальних апаратів у досліджуване водне середовище, вміщують контейнер, що має всі або частину повністю або частково прозорі стінки, з живим тестовим біологічним об'єктом, функцію якого виконують легеневі черевоногі равлики, що належать до 55 біологічного виду Planorbarius corneus. При цьому будь-яким відомим способом, наприклад шляхом застосування поплавців та грузил здійснюють розміщення контейнера у досліджуваному водному середовищі таким чином, щоб забезпечити потрапляння досліджуваної води до контейнера та безпосередній контакт з атмосферним повітрям поверхні досліджуваної води у контейнері. Після вміщення таким чином контейнера до досліджуваного 60 водного середовища будь яким відомим способом, наприклад - цифровим фотографуванням, з борту безпілотних літальних апаратів спостерігають через прозорі стінки за розміщенням равликів у наступних трьох, різних за глибинами ділянках контейнера:

- нижній - на глибинах, не менших відстані 40 мм по вертикалі від найближчої до рівня води у контейнері частини його dna;

- верхній - на глибинах, менших 40 мм від поверхні води у контейнері;
- середній - проміжній між нижнім і верхнім.

У нетоксичному водному середовищі живі равлики можуть знаходитися на всіх цих ділянках, періодично переповзаючи з нижньої ділянки до верхньої для заповнення легенів повітрям та повертаючись назад. В усіх цих випадках вони час від часу опиняються на середній ділянці.

У гостротоксичному водному середовищі вбиті токсином равлики можуть знаходитися лише або у нижній ділянці - загиблі равлики, що опустилися на дно і займають смугу, з урахуванням розмірів равликів, не вище 40 мм, або у верхній ділянці - загиблі равлики, що спили угору і плавають у смузі не нижче 40 мм від поверхні води у контейнері. На середній ділянці можуть опинитися лише живі равлики, здатні до активного пересування по стінках контейнера. Спостерігаючи розташування равликів на згаданих ділянках діагностують:

- наявність гострої токсичності досліджуваного водного середовища - за відсутності равликів на середній ділянці;
- відсутність гострої токсичності досліджуваного водного середовища - за наявності равликів на середній ділянці.

При цьому за наявність равликів на середній ділянці вважається лише така, що триває більше 30 секунд. Це робиться для того, щоб не брати до уваги загиблих равликів, що можуть опинитися на середній ділянці потопаючи чи спливаючи догори.

З урахуванням невеликої рухливості легеневих черевоногих равликів, повільної дії токсинів на їхній організм та потреби у статистичній достовірності, такі спостереження треба проводити впродовж двох годин. Можливість за допомогою запропонованого способу дистанційно діагностувати наявність або відсутність гострої токсичності водного середовища підтверджується наведеним нижче прикладом його експериментального здійснення у серпні 2016 року у Саржиному яру на території міста Харкова. Статистична достовірність ефектів, що спостерігалися в експерименті, оцінювалася за точним методом Фішера (Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. М.: Медицина, 1978, - С. 81, 223-228.) для якісних ефектів у малих вибірках. Йдеться про якісний ефект реєстрації відмінностей кількостей випадків спостереження равликів на середній ділянці контейнерів, що містять їх як біологічний тест-об'єкт, за умов занурення цих контейнерів в пластикові кювети, що імітують досліджувані водоймища з наявністю або відсутністю у їхній воді гострої токсичності.

Приклад здійснення способу.

Досліджуване водне середовище імітувалося пластиковими кюветами, місткістю 7 літрів, заповнених водою з джерела у Саржиному яру. У експериментальному варіанті до води у кюветах додавався формалін до створення його 5 відсоткової концентрації, у контрольному варіанті формальдегід не додавався. Температура повітря під час експерименту коливалася в межах від 21 до 27 градусів Цельсію.

Функції живого тестового біологічного об'єкту виконували легеневі черевоногі равлики виду *Planorbarius corneus*, найбільші розміри мушлі яких не перевищували 10 мм. Равликів вміщували в цілком прозорі пластикові контейнери, що мали форму паралелепіпедів розміром 150 на 40 на 40 мм, всі стіни яких були перфоровані таким чином, що розміри отворів перешкоджали виходу назовні равликів і забезпечували контакт внутрішнього об'єму контейнерів з водою у кюветах, а через верхню, найменшу стінку - з атмосферним повітрям. Контейнери розміщували у кюветах вертикально - верхнім і нижнім стінкам відповідали найменші грані паралелепіпедів. При цьому контейнери були занурені у воду на глибину 120 мм, що забезпечувало можливість для равликів заповнювати їхні легені повітрям.

На стінках двох найбільших граней, відповідно червоним, синім і зеленим кольором були позначені площини верхньої, середньої та нижньої ділянок, межі глибин яких позначені вище, а саме: верхня ділянка - до глибини 40 мм від поверхні води, середня - від 40 до 80 мм, нижня ділянка - глибше 80 мм.

Наявність і кількість равликів на середній (синій) ділянці реєструвалася шляхом цифрового фотографування за допомогою фотокамери "Canon" з відстані 5 м і висоти 3 м, що відповідає можливостям цифрового фотографування з борту сучасних найлегших і порівняно дешевих модифікацій безплітних літальних апаратів. Подальша комп'ютерна обробка світлин дозволяла збільшити контрастність зображень брунатно-червоних мушель равликів на синьому фоні середньої ділянки. Для експериментального та контрольного варіантів було впродовж серій двогодинних досліджень зроблено по сім серій цифрових фотографій. Кожна фотографія робилася двічі з інтервалом 30 секунд, бралися до уваги лише зображення равликів, які впродовж цього тридцятисекундного інтервалу часу залишалися у середній синій ділянці. Це робилося для того, щоб відсіяти зображення загиблих равликів, які перетинають середню

ділянку спливаючи догори чи потопаючи. Різниця між експериментом і контролем має такий вигляд:

- в контролі в усіх семи серіях на середній, синій ділянці була зафікована наявність равликів.

5 - в експерименті ні в жодної із семи серій не було зафіковано ні одного випадку наявності равликів на середній, синій ділянці.

Незважаючи на малий розмір вибірок точний метод Фішера для якісних ефектів (Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. М.: Медицина, 1978, - С. 81, 223-228) дозволяє визначити у контролі у порівнянні з експериментом статистично достовірну ($p<0,05$) перевагу ймовірності вияву впродовж двогодинних спостережень наявності на середній, синій ділянці равликів, котрі могли потрапити туди тільки живими - тож цей ефект свідчить про відсутність у досліджуваному водному середовищі гострої токсичності. Равлики у контейнерах, вміщених у нетоксичну воду тимчасових невеликих водоймищ у Саржиному яру виявляли необхідну для реалізації пропонованого способу активність принаймні впродовж десяти діб.

10 Таким чином, наведений приклад свідчить про принципову можливість реалізації з використанням пропонованого способу технологій визначення локалізації джерел загроз біобезпеці, що можуть виникнути внаслідок руйнації сховищ токсичних речовин, аварій на хімічних підприємствах тощо. При тому мова може йти про виявлення не лише джерел, але й 15 шляхів і динаміки розповсюдження таких загроз - за рахунок розташування заздалегідь у відповідних місцях тестових мікроекосистем, створених згідно запропонованого способу, придатних для виявлення згаданих загроз біобезпеці досить довго після розміщення. З того 20 витікає соціальний ефект застосування пропонованого способу в умовах, коли може виникнути потреба у швидкому визначені на великих теренах іноді важкодоступної місцевості джерел 25 токсичності, які утворилися внаслідок техногенних катастроф та інших екстремальних інцидентів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 30 1. Способ дистанційного біологічного тестування гострої токсичності водного середовища, що включає вміщення до досліджуваного водного середовища контейнера з біологічним тест-об'єктом, який **відрізняється** тим, що вміщення контейнера у досліджуване водне середовище здійснюють з можливістю безпосереднього контакту поверхні води у контейнері з атмосферним повітрям, частину або всі стінки контейнера повністю виконують прозорими, на стінках двох 35 найбільших граней позначають площини верхньої, середньої та нижньої ділянок, відповідно червоним, синім і зеленим кольором, а саме: верхня ділянка - до глибини 40 мм від поверхні води, середня - від 40 до 80 мм, нижня ділянка - глибше 80 мм, як біологічний тест-об'єкт 40 вміщують у контейнер легеневих черевоногих равликів біологічного виду Planor barius corneus, далі дистанційним способом ведуть спостереження за розташуванням равликів у внутрішньому просторі контейнера впродовж відрізу від часу до двох годин і діагностують наявність гострої токсичності досліджуваного водного середовища за відсутності легеневих черевоногих равликів 45 на середній ділянці у внутрішньому просторі контейнера впродовж більш ніж 30 секунд та відсутність гострої токсичності досліджуваного водного середовища за наявності равликів на середній ділянці.
- 45 2. Способ за п. 1, який **відрізняється** тим, що як легеневих черевоногих равликів беруть біологічного виду Planorbarius corneus.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601