



УДК 556.532(477-924-52)

DOI <https://doi.org/10.32782/naturaljournal.8.2024.26>

## АЛГОРИТМ ОЦІНЮВАННЯ БАЗОВОГО НАБОРУ ТАКСОНІВ ЗАДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЇХ ЕФЕКТИВНОСТІ

О. М. Крайнюков<sup>1</sup>, І. А. Кривицька<sup>2</sup>, О. Є. Найдюнова<sup>3</sup>

*Водне середовище часто забруднене складними сумішами хімічних речовин, які можуть становити загрозу для екосистем і здоров'я людини. У зв'язку з нашими обмеженими знаннями про хімічний світ і вплив безлічі неконтрольованих або абсолютно невідомих хімічних речовин порівняння між спостережуваними ефектами та прогнозованою токсичністю на основі хімічного аналізу часто вказує на значні частки незрозумілих ефектів. Оскільки всебічний аналіз і оцінка всього хімічного всесвіту видається неможливим, потрібні підходи, щоб зменшити складність можливого або фактичного забруднення навколишнього середовища, одночасно обмежуючи ймовірність не помічати істотних факторів ризиків і наслідків.*

*З цим забрудненням неможливо боротися лише за допомогою цільового аналізу, потрібні такі інструменти, щоб зменшити цю складність і визначити небезпечний вплив хімічних речовин, які можуть спричинити несприятливі наслідки. Пов'язати біологічні ефекти з впливом конкретних активних речовин часто проблематично через велику кількість сполук, присутніх у навколишньому середовищі. Біотести, ймовірно, є рішенням для визначення сумісної дії всіх присутніх у воді хімічних речовин та встановлення токсичних властивостей водного середовища і отже благополуччя водної екосистеми.*

*У лабораторії еколого-токсикологічних досліджень Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна було проведено серію експериментальних досліджень з визначення рівнів гостроти*

<sup>1</sup> доктор географічних наук, професор, професор кафедри екологічної безпеки та екологічної освіти (Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, м. Харків)  
e-mail: [alkraunukov@gmail.com](mailto:alkraunukov@gmail.com)  
ORCID: 0000-0002-5264-3118

<sup>2</sup> кандидат біологічних наук, доцент кафедри екологічної безпеки та екологічної освіти (Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, м. Харків)  
доцент кафедри агрономії та землеустрою (Східноукраїнський національний університет імені Володимира Даля, м. Київ)  
e-mail: [ivkrivicka@gmail.com](mailto:ivkrivicka@gmail.com)  
ORCID: 0000-0003-4727-794X

<sup>3</sup> кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, в.о. завідувача сектору мікробіології ґрунтів (Національний науковий центр «Інститут ґрунтознавства та агрохімії імені О.Н. Соколовського», м. Харків)  
e-mail: [naydyonova@ukr.net](mailto:naydyonova@ukr.net)  
ORCID: 0000-0002-8568-5699

летальної токсичності зразків стічної води, які було відібрано з випусків підприємств різних галузей промисловості у межах Дніпропетровської області та рівнів хронічної токсичності зразків поверхневих вод з контрольних створів тих самих підприємств. В експериментах використовували «базовий набір таксонів», а саме водорості, макрофіти, ракоподібні та риби.

Можливим недоліком визначення екологічного стану водного об'єкту за допомогою біотестування може бути його нереалістичне представлення за допомогою лише одного біотеста, оскільки біологічна реакція організму на один і той самий токсичний агент відрізняється. Тому для дослідження токсичності поверхневих та стічних вод, за результатами цього дослідження, рекомендується використовувати декілька біологічних тестів з організмами, що представляють різні трофічні рівні.

**Ключові слова:** забруднення, водний об'єкт, тест-об'єкт, параметр, методика біотестування, ефективність.

## ALGORITHM FOR ESTIMATING THE BASIC SET OF TAXA FOR DETERMINING THEIR EFFECTIVENESS

O. M. Krainiukov, I. A. Kryvytska, O. E. Naidonova

*The aquatic environment is often polluted with complex mixtures of chemicals that can pose a threat to ecosystems and human health. Due to our limited knowledge of the chemical world and exposure to a multitude of uncontrolled or completely unknown chemicals, comparisons between observed effects and predicted toxicity based on chemical analysis often indicate significant fractions of unexplained effects. Because comprehensive analysis and assessment of the entire chemical universe appears impossible, approaches are needed to reduce the complexity of potential or actual environmental contamination while limiting the likelihood of missing significant risk factors and consequences. This pollution cannot be tackled by targeted analysis alone, such tools are needed to reduce this complexity and identify hazardous chemical exposures that may cause adverse effects. It is often problematic to relate biological effects to exposure to specific active substances due to the large number of compounds present in the environment. Bioassays are probably the solution to determine the synergistic effect of all chemicals present in the water and establish the toxic properties of the aquatic environment and therefore the well-being of the aquatic ecosystem.*

*In the laboratory of ecological and toxicological research of Kharkiv National University named after V. N. Karazin, a series of experimental studies was conducted to determine the levels of acute lethal toxicity of waste water samples, which were selected from the releases of enterprises of various industries within the Dnipropetrovsk region, and the levels of chronic toxicity of surface water samples from control units of the same enterprises. The experiments used a "base set of taxa", namely algae, macrophytes, crustaceans and fish.*

*A possible disadvantage of determining the ecological status of a water body using biotesting can be its unrealistic representation using only one biotest, since the biological response of an organism to the same toxic agent is different. Therefore, to study the toxicity of surface and wastewater, according to the results of this study, it is recommended to use several biological tests with organisms representing different trophic levels.*

**Key words:** pollution, water object, test object, parameter, biotesting technique, efficiency.

### Вступ

Токсичні ефекти, що виявляються в навколишньому середовищі, найчастіше викликані впливом сумішей відомих і невідомих забруднюючих речовин. Однією з ключових проблем у хімії навколишнього середовища та екоотоксикології є характеристика та ідентифікація цих токсикантів у зв'язку з їх небезпечним ефектом. Багато з поточних досліджень з оцінки небезпечної дії забруднювачів у нашому середовищі пов'язані з труднощами в оцінюванні різних ефектів від дії складних сумішей (Schuijt et al., 2021; Lomartire et al., 2021).

Щоб подолати ці аналітичні проблеми, протягом останнього десятиліття з'явилася біоаналітична концепція. Поточні проблеми в оцінці якості води водних об'єктів, яка орієнтована в основному на визначення концентрацій хімічних речовин може призвести до величезних аналітичних витрат, в той час коли впровадження інтегрованих біоаналітичних підходів як багатообіцяючих потужних інструментів може в значній мірі удосконалити та пришвидшити моніторингові дослідження впливу хімічних речовин на водні екосистеми шляхом врахування зв'язку наявність/ефект (Suter, 2008).

Існує величезна невідповідність між кількістю сполук, потенційно присутніх у навколишньому середовищі та кількістю пріоритетних забруднювачів, які регулярно перевіряються. Одна з труднощів, що виникає при оцінюванні забруднення навколишнього середовища, полягає в тому, що існує багато забруднюючих речовин які мають низькі концентрації, які призводять до токсичного ефекту та значну часову та просторову мінливість. Аналіз кількох класів сполук, присутніх у слідових або ультраслідових концентраціях, вимагає використання різного обладнання, методик та алгоритмів і кожен алгоритм передбачає різні методи підготовки зразків. Ці вимоги вимагають багато часу та витрат. Очевидно, що провести хімічний моніторинг усіх сполук, які можуть знаходитися у зразках води практично неможливо і цільовий аналіз попередньо вибраних наборів забруднювачів часто пропускає токсичні речовини, специфічні для конкретного місця і тому іноді дуже складно пояснити токсикологічні властивості зразків води (Hollert et al., 2005).

Крім того, органічні забруднювачі є реактивними сполуками, тобто вступають у хімічні реакції у навколишньому середовищі та водних системах досить швидко. Добре відомі реакції трансформації, які включають фізико-хімічні процеси (гідроліз, реакції, викликані світлом, реакції з окислювачами) та біологічні процеси (з вільними бактеріями чи біоплівкою, або метаболізм). Ці реакції перетворення призводять до утворення численних новітніх хімічних сполук, про які в більшості випадків майже нічого не відомо. Утворення кількох продуктів перетворення, що виникають із-за численних забруднювачів, присутніх у водних системах, збільшує складність проблеми, особливо тому, що деякі з них можуть бути більш стійкими та/або більш токсичними, ніж їхні вихідні сполуки.

Вивчення токсичності, перш за все, органічних забруднювачів ускладнюється труднощами пізнання природи та токсичності продуктів їх перетворення. Зіткнувшись із великою кількістю нових забруднювачів і значно більшою кількістю метаболітів і продуктів розпаду, існує критична нестача надійних даних для оцінки їхніх ризиків для навколишнього середовища та здоров'я людини. Для всіх цих невідомих сполук доступна дуже мізерна інформація про їхні хімічні та біохімічні властивості та їх потенційні взаємодіючі ефекти в складних

сумішах. В даний час зростає занепокоєння щодо утворення продуктів трансформації, оскільки є докази того, що вони можуть бути більш токсичними та стійкими, ніж первісні сполуки (Hernández et al., 2008).

Пов'язати біологічні ефекти з впливом конкретних активних речовин часто проблематично через велику кількість сполук, присутніх у навколишньому середовищі. Біотести, ймовірно, є рішенням для аналізу токсичних властивостей у зразках, але за їх допомогою не можливо ідентифікувати сполуки. У той же час, сучасні хіміко-аналітичні методи забезпечують чудову чутливість при аналізі відомих сполук, але вони не можуть дати інформацію про токсичні властивості і легко пропускають сполуки, які не були включені в конкретний метод кількісного визначення (Houtman et al., 2007). Щоб встановити причинно-наслідкові зв'язки між ефектами, що спостерігаються в навколишньому середовищі та оцінити результати хімічного аналізу, все більше дослідницьких груп почали поєднувати біологічні (переважно біотести) та хімічні методи (Streck et al., 2009).

*Постановка проблеми.* Однією із найбільш важливих характеристик методик біотестування є чутливість організмів, які використовуються в якості тест-об'єктів, на присутність у середовищі їх мешкання хімічних сполук токсичної дії. Дослідження питань чутливості водних організмів до дії токсичних сполук присвячено певну кількість робіт (Allan et al., 2006; Kadian et al., 2016; Aslantürk et al., 2018; Sabotić et al., 2024). Поняття чутливості організмів має два аспекти – якісний та кількісний. В якісному відношенні чутливість – це здатність функцій організму відповідати на вплив (дію) хімічних сполук. У кількісному відношенні найчастіше чутливість слугує задля зіставлення реактивності різних організмів, функцій і процесів на шкідливий вплив. Організм вважається більш чутливим, ніж інший, якщо порушення його життєвих функцій відбувається раніше та при менших концентраціях впливу або наявності таких порушень виявляється раніше (Martinez-Haro et al., 2022).

При дослідженні дії токсичної сполуки на організм оцінюють його реакцію за одним або декількома заздалегідь встановленими показниками. Якщо досліджується сукупність показників, то, зазвичай, загальна чутливість організму встановлюється по найбільш чутливому з показників (Крайнюков, 2013).

Спроби застосувати якісь обмеження поняття чутливості процесами фізіолого-біохімічного характеру не призводить до отримання правильного та достовірного результату. Практичні дослідження з урахуванням інших функцій життєдіяльності організмів також може використовуватися для оцінки чутливості організму за задалегідь встановленими показниками.

В якості кількісного показника чутливості можливо використовувати, або мінімальну концентрацію токсичної речовини, що викликає зміну будь-якої функції організму за певний термін часу, або мінімальний термін прояву зміни при заданому впливі, або, нарешті, величину відповідної реакції при заданому впливі і терміні, визначеному умовами проведення досліду. У зв'язку з цим, одиницями вимірювання чутливості можуть слугувати одиниці концентрації речовини, часу або одиниці вираження ефекту (відсотки). При вираженні чутливості організму через концентрацію або час задалегідь встановлюється фіксована величина ефекту, яка повинна бути викликана впливом. Найчастіше приймається величина ефекту, що складає мінімальне статистичне достовірне відхилення відповідного показника від контролю (Крайнюков, 2013).

Таким чином, поняття чутливості є відносним, а при кількісній оцінці чутливості функції організму існує необхідність введення обмежуючих умов. З урахуванням цих умов поняття чутливості може бути визначене як найменша величина токсичної дії (концентрація або термін експозиції), що викликає відхилення будь-якого біологічного або екологічного показника від контролю не менш, ніж на деяку обумовлену величину за встановлений термін (Крайнюков, 2013).

### Матеріал і методи

Зважаючи на євроінтеграційну спрямованість України також і у водоохоронній діяльності, основна наша увага приділяється Водній Рамковій Директиві 2000/60/ЄС (ВРД), яка встановлює основні нормативні засади охорони поверхневих вод від шкідливого впливу небезпечних хімічних сполук. Відповідно до статті 16 ВРД визначено стратегію відповідно до поводження з хімічними речовинами задля захисту поверхневих водних об'єктів від забруднення.

Відповідно до пункту 1.2.6. Додатку V ВРД 2000/60/ЄС з метою обмеження надходження до поверхневих водних об'єктів небезпечних хімічних речовин встановлю-

ються екологічні стандарти якості води на «базовому наборі таксонів» з використанням представників основних ланок трофічного ланцюга водної екосистеми: водоростей та/або макрофітів, ракоподібних та риб (Крайнюкова та ін., 2021).

Найбільш вживаними у практичних дослідженнях тест-об'єктами для здійснення оцінки небезпеки окремих хімічних речовин, їх сумішей для водної екосистеми та встановлення екологічних стандартів якості води є наступні:

– для водоростей: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris*, *Selenastrum capricornutum*;

– серед ракоподібних: *Ceriodaphnia affinis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*;

– серед риб: *Cyprinus carpio*, *Oncorhynchus mykiss*, *Danio rerio*;

– серед макрофітів: *Lemna minor*.

«Базовий набір таксонів» в країнах ЄС використовується для визначення токсичних властивостей нових (штучних) хімічних речовин або сумішей, які розроблені на території країн ЄС або є імпортованими. Зазначені процедури здійснюються відповідно до Регламенту ЄС № 1907/2006 Про реєстрацію, оцінку, авторизацію і обмеження хімічних речовин та препаратів (REACH). Додатками VII-X Регламенту встановлюються обов'язкові вимоги до стандартної інформації нової хімічної речовини необхідної для отримання дозволу на її використання, серед якої для захисту водної екосистеми використовуються результати визначення їх токсикологічних властивостей на водоростях, ракоподібних та рибах (Крайнюкова та ін., 2021).

### Результати

Метою цього дослідження було оцінювання різних параметрів методик біотестування для досягнення оптимального кількісного та якісного визначення рівня токсичності будь-якої категорії води та визначення найбільш ефективної методики біотестування.

В лабораторії еколого-токсикологічних досліджень Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна було проведено серію експериментальних досліджень з визначення рівнів гострої летальної токсичності зразків стічної води, які було відібрано з випусків підприємств різних галузей промисловості у межах Дніпропетровської області та рівнів хронічної токсичності зраз-

ків поверхневих вод з контрольних створів тих самих підприємств. В експериментах використовували «базовий набір таксонів», а саме водорості, макрофіти, ракоподібні та риби.

При впровадженні методик біотестування в водоохоронну практику, окрім чутливості тест-об'єктів, важливого значення та оцінки набувають такі різні параметри, як експресність отримання результатів, економічність та трудомісткість токсикологічних аналізів, вірогідність результатів та відповідність вимогам встановлених для них метрологічних характеристик та ін. Враховуючи вищенаведене, для оцінювання ефективності методик біотестування на різних представниках трофічного ланцюга водної екосистеми було використано та апробовано ряд параметрів:

1) чутливість: кількість позитивних відповідей на вплив токсичних проб води з числа проаналізованих;

2) мінімальна діюча концентрація найбільш токсичної проби води згідно з критерієм токсичності, %;

3) експресність: тривалість біотестування, годин;

4) трудомісткість: витрати часу на підготовку та проведення біотестування, обчислення результатів, годин;

5) економічність: стартові та експлуатаційні витрати (придбання спеціального обладнання, матеріалів, реактивів, культури тест-об'єкта), грн.;

6) особливості біотеста (можливість визначення гострої і хронічної токсичності, відсутність суб'єктивізму в оцінюванні тест-реакції) і тест-об'єкта (спосіб отримання та можливість безперервного культивування в лабораторних умовах);

7) наявність метрологічних характеристик: похибки одиночного визначення токсичності, нормативу оперативного контролю відтворюваності результатів, діапазону реагування тест-об'єкта;

8) наявність нормативно-правових документів, національних та міжнародних стандартів;

9) можливість та ефективність використання за умов виробничих і контролюючих лабораторій;

10) розповсюдженість використання в інших країнах.

Як видно із переліка, у параметрах знайшли відображення всі основні характеристики біотестів, об'єктивна оцінка яких надає можливість проранжувати біотести за показником ефективності використання (Крайнюкова та ін., 2021). Оцінювання кожної параметра здійснювалось за 10 бальною шкалою (табл. 1).

Як видно з наведених результатів, найбільш ефективною методикою біотестування, виходячи з аналізу наведеного переліку параметрів – є методика визначення хронічної та гострої летальної токсичності на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* (ДСТУ, 2003). Інші методики можливо використовувати в якості допоміжних для отримання додаткової інформації о токсикологічних властивостях досліджуваних зразків поверхневих та/або зворотних вод.

#### Обговорення

Біологічна оцінка є обов'язковою для скидів стічних вод в багатьох країнах, тоді як в інших стічні води оцінюються лише за

Таблиця 1  
Результати оцінювання ефективності методик біотестування за запропонованими параметрами

№ параметра	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Danio rerio</i>	<i>Lemna minor</i>	<i>Ceriodaphnia affinis</i>	<i>Daphnia magna</i>
1.	8	6	2	4	10	9
2.	9	7	2	5	10	9
3.	8	8	7	7	5	5
4.	5	7	5	8	10	10
5.	2	2	2	3	9	9
6.	7	7	7	7	10	10
7.	10	5	10	5	10	10
8.	10	8	10	8	10	10
9.	8	8	7	7	10	10
10.	10	10	10	10	10	10
Σ	77	68	62	64	<b>94</b>	92

їх хімічними та фізичними властивостями. Існує широкий вибір доступних біотестів, але для рутинного скринінгу зворотних (стічних) та поверхневих вод корисною буде батарея швидких невеликих біотестів на різних трофічних рівнях. Найбільш класичними екоотоксикологічними методами тестування стічних та поверхневих вод є стандартні тести на ракоподібних, зелених водоростях та ін., за допомогою яких виявляють гостру та хронічну токсичність. Результати нашого дослідження показали, що найбільш ефективною та «чутливою» є методика біотестування з використанням ракоподібних *Ceriodaphnia affinis*, хоча оцінка не повинна обмежуватися лише одним чи двома біотестами чи лише хімічним аналізом. Для того, щоб отримати всебічне уявлення про біологічні ефекти впливу, слід використовувати різноманітні методи. Батарея швидких дрібномасштабних біотестів для оцінки рівнів гострої та хронічної токсичності, генотоксичності може бути придатною для оцінювання благополуччя водної екосистеми.

## Висновки

У результаті серії експериментальних досліджень із визначення рівнів хронічної та гострої летальної токсичності та оцінювання запропонованих параметрів по визначенню найбільш ефективної методики біотестування було встановлено, що методика біотестування з використанням ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* є найбільш ефективною. В експериментах використовували «базовий набір таксонів», а саме водорості, макрофіти, ракоподібні та риби.

Можливим недоліком визначення екологічного стану водного об'єкту за допомогою біотестування може бути його нереалістичне представлення за допомогою лише одного біотеста, оскільки біологічна реакція організму на один і той самий токсичний агент відрізняється. Тому для дослідження токсичності поверхневих та стічних вод, за результатами цього дослідження, рекомендується використовувати декілька біологічних тестів з організмами, що представляють різні трофічні рівні.

## Список використаної літератури

- ДСТУ 4173-2003. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 6341:1996, MOD). 17 с.
- Крайнюков О.М. Критерії оцінки чутливості організмів та ефективності методик біотестування для визначення токсичних властивостей води. *Вісник ХНУ. Сер.: Екологія*. 2013. № 1012. С. 64–69.
- Крайнюкова А.М., Крайнюков О.М., Кривицька І. А. Використання методик біотестування для оцінювання екологічного стану поверхневих вод. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна серія «Екологія»*. 2021. 24. С. 103–116. <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2021-24-09>.
- Allan Ian J., Vrana B., Greenwood R., Mills G. A., Roig B., Gonzalez C. A “toolbox” for biological and chemical monitoring requirements for the European Union’s Water Framework Directive. *Talanta*, 2006. Vol. 69. Issue 2. P. 302–322. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.043>.
- Aslantürk A., Sultan Ö. In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages. *Genotoxicity-A predictable risk to our actual world*. 2018. 2. P. 64–80. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>.
- Hernández F., Sancho J.V., Ibáñez M., Grimalt S. Investigation of pesticide metabolites in food and water by LC-TOF-MS. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2008. Vol. 27. Issue 10. P. 862–872. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.08.011>.
- Hollert H., Dürr M., Holtey-Weber, R. Endocrine Disruption of Water and Sediment Extracts in a Non-Radioactive Dot Blot/RNase Protection-Assay Using Isolated Hepatocytes of Rainbow Trout. Deficiencies between bioanalytical effectiveness and chemically determined concentrations and how to explain them. *Env Sci Poll Res Int*. 2005. 12. P. 347–360. <https://doi.org/10.1065/espr2005.07.273>.
- Houtman C.J., Booj P., Van der Valk C.M., Van Bodegom P.M., Van den Ende F., Gerritsen A.A.M., Lamoree M.H., Legler J., Brouwer A. Biomonitoring of estrogenic exposure and identification of responsible compounds in bream from Dutch surface waters. *Environ. Toxicol. Chem*. 2007. 26. P. 898–907. <https://doi.org/10.1897/06-326R.1>.
- Kadian N., Raju K., Rashid M., Malik M., Taneja I., Wahajuddin M. Comparative assessment of bioanalytical method validation guidelines for pharmaceutical industry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016. Vol. 126. P. 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.052>.

Lomartire S., Marques J.C., Gonçalves A.M.M. Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems. *Ecol. Indic.* 2021 122. P. 107207. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107207>.

Martinez-Haro M., Acevedo P., Juliana Pais-Costa A., Neto J. M., Vieira L. R., Ospina-Alvarez N., Taggart M. A., Guilhermino L., Ribeiro R. Ecotoxicological tools in support of the aims of the European Water Framework Directive: A step towards a more holistic ecosystem-based approach. *Ecological Indicators*. 2022. Vol. 145. P. 109645. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109645>.

Sabotić J., Bayram E., Ezra D., Gaudêncio S. P., Haznedaroğlu B. Z., Janež N., A guide to the use of bioassays in exploration of natural resources. *Biotechnology Advances*, 2024. Vol. 71. P. 108307. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108307>.

Schuijt L.M., Peng F.-J., Van den Berg S.J.P., Dingemans M.M.L., Van den Brink P.J. (Eco)toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: Facts, challenges, and future. *Sci. Total Environ.* 2021. 795. P. 148776 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148776>.

Streck G. Chemical and biological analysis of estrogenic, progestagenic and androgenic steroids in the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2009. Vol. 28. Issue 6. P. 635–652. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.03.006>.

Suter M.JF. Effect-oriented environmental analysis. *Anal Bioanal Chem.* 2008. 390. P. 1957–1958. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-1982-3>.

### References (translated & transliterated)

DSTU 4173-2003. Jakistj vody. Vyznachannja ghostroji letaljnoji toksychnosti na Daphnia magna Straus ta *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) [Water quality. Determination of acute lethal toxicity to Daphnia magna Straus and *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea)] (ISO 6341:1996, MOD). 17 p. [in Ukrainian].

Krajnjukov, O.M. (2013). Kryteriji ocinky chutlyvosti orghanizmiv ta efektyvnosti metodyk biotestuvannja dlja vyznachennja toksychnykh vlastyvostej vody [Criteria for assessing the sensitivity of organisms and the effectiveness of biotesting methods for determining the toxic properties of water]. *Visnyk KhNU. Ser.: Ekologhija* [Bulletin of Kharkiv National University named after V. N. Karazin, series «Ecology»], 1012, 64–69 [in Ukrainian].

Krajnjukova, A.M., Krajnjukov, O.M., & Kryvyckja, I.A. (2021). Vykorystannja metodyk biotestuvannja dlja ocinjuvannja ekologhichnogho stanu poverkhnevnykh vod [The use of biotesting techniques to assess the ecological status of surface waters]. *Visnyk Kharkivskogho nacionalnogho universytetu imeni V. N. Karazina serija «Ekologhija»* [Bulletin of Kharkiv National University named after V. N. Karazin, series «Ecology»], 24, 103–116. <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2021-24-09> [in Ukrainian].

Allan, Ian J., Vrana, B., Greenwood, R., Mills, G.A., Roig, B., & Gonzalez, C. (2006). A «toolbox» for biological and chemical monitoring requirements for the European Union's Water Framework Directive. *Talanta*, Vol. 69, 2, 302–322. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.043> [in English].

Aslantürk, A., & Sultan, Ö. (2018). In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages. *Genotoxicity-A predictable risk to our actual world*. 2, 64–80. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923> [in English].

Hernández, F., Sancho, J.V., Ibáñez, M., & Grimalt, S. (2008). Investigation of pesticide metabolites in food and water by LC-TOF-MS. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 27, 10, 862–872. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.08.011> [in English].

Hollert, H., Dürr, M., & Holtey-Weber, R. (2005). Endocrine Disruption of Water and Sediment Extracts in a Non-Radioactive Dot Blot/RNase Protection-Assay Using Isolated Hepatocytes of Rainbow Trout. Deficiencies between bioanalytical effectiveness and chemically determined concentrations and how to explain them. *Env Sci Poll Res Int.*, 12, 347–360. <https://doi.org/10.1065/espr2005.07.273> [in English].

Houtman, C.J., Booj, P., Van der Valk, C.M., Van Bodegom, P.M., Van den Ende, F., Gerritsen, A.A.M., Lamoree, M.H., Legler, J., & Brouwer, A. (2007). Biomonitoring of estrogenic exposure and identification of responsible compounds in bream from Dutch surface waters. *Environ. Toxicol. Chem.*, 26, 898–907. <https://doi.org/10.1897/06-326R.1> [in English].

Kadian, N., Raju, K., Rashid, M., Malik, M., Taneja, I., & Wahajuddin, M. (2016). Comparative assessment of bioanalytical method validation guidelines for pharmaceutical industry. *Journal of*

*Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 126, 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.052> [in English].

Lomartire, S., Marques, J.C., & Gonçalves, A.M.M. (2021). Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems. *Ecol. Indic.*, 122, 107207. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107207> [in English].

Martinez-Haro, M., Acevedo, P., Juliana Pais-Costa, A., Neto, J.M., Vieira, L.R., Ospina-Alvarez, N., Taggart, M.A., Guilhermino, L., & Ribeiro, R. (2022). Ecotoxicological tools in support of the aims of the European Water Framework Directive: A step towards a more holistic ecosystem-based approach. *Ecological Indicators*, 145, 109645. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109645> [in English].

Sabotič, J., Bayram, E., Ezra, D., Gaudêncio, S.P., Haznedaroğlu, B.Z., & Janež, N. (2024). A guide to the use of bioassays in exploration of natural resources. *Biotechnology Advances*, 71, 108307. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108307> [in English].

Schuijt, L.M., Peng, F.-J., Van den Berg, S.J.P., Dingemans, M.M.L., & Van den Brink, P.J. (2021). (Eco)toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: Facts, challenges, and future. *Sci. Total Environ.*, 795, 148776 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148776> [in English].

Streck, G. (2009). Chemical and biological analysis of estrogenic, progestagenic and androgenic steroids in the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28, 6, 635–652. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.03.006> [in English].

Suter, M.JF. (2008). Effect-oriented environmental analysis. *Anal Bioanal Chem.*, 390, 1957–1958. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-1982-3> [in English].

Отримано: 18.04.2024  
Прийнято: 26.04.2024