

создания эффективных средств капсулирования, адресной доставки и управляемого высвобождения лекарственных и биологически активных веществ.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект 14-12-01379).

Список литературы / References:

1. Freeman A.I., Mayhew E. Targeted drug delivery. *Cancer*, 1986, vol. 58, pp. 573-583.
2. Svenson S., Robert K. Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery Applications: Imaging, Targeting, and Delivery Series. *Nanostructure Science and Technology*, Springer, 2012, 373 p.
3. Parveen S., Misra R., Sahoo S.K. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2012, vol. 8, no. 2, pp. 147-166.
4. Kataoka K., Harada A., Nagasaki Y. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, vol.47, no. 1, pp. 113-131.
5. Landon C.D., Park J.-Y., Needham D., Dewhirst M.W. Nanoscale drug delivery and hyperthermia: The materials design and preclinical and clinical testing of low temperature-sensitive liposomes used in combination with mild hyperthermia in the treatment of local cancer. *Open Nanomedicine Journal*, 2011, vol. 3, pp. 38-64.
6. Cammas S. [et. al.] Thermo-responsive polymer nanoparticles with a core-shell micelle structure as site-specific drug carriers. *J. Control. Rel.*, 1997, vol. 48, pp. 157-164.
7. Tran N.T.D., Truong N.P. [et al.] Timed-Release Polymer Nanoparticles. *Biomacromolecules*, 2013, vol. 14, pp. 495-502.
8. Tran N.T.D., Truong N.P. [et al.] Fine Tuning the Disassembly Time of Thermoresponsive Polymer Nanoparticles. *Biomacromolecules*, 2013, vol. 14, pp. 3463-3471.
9. Kooiman K., Böhmer M.R., Emmer M. [et al.] Oil-filled polymer microcapsules for ultrasound-mediated delivery of lipophilic drugs. *Journal of Controlled Release*, 2009, vol. 133, pp. 109-118.
10. Misawa H., Kitamura N., Masuhara H. Laser Manipulation and Ablation of a Single Microcapsule in Water. *J. Am. Chem. SOC*, 1991, vol. 113, pp. 7859-7863.
11. Sriprya J., Anandhakumara S., Achiraman S. [et al.] Laser receptive polyelectrolyte thin films doped with biosynthesized silver nanoparticles for antibacterial coatings and drug delivery applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, vol 457, pp. 206-213.
12. DePrince E.A., Hinde R.J. Accurate Computation of Electric Field Enhancement Factors for Metallic Nanoparticles Using the Discrete Dipole Approximation. *Nanoscale Res Lett.*, 2010, vol. 5, pp. 592-596.

БИОМИМЕТИЧЕСКИЕ МОНОСЛОИ, ПЛЕНКИ И МЕМБРАННЫЕ ВЕЗИКУЛЫ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСОВ АМФИФИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛИМЕРОВ И НАНОЧАСТИЦ

Ким В.П.¹, Потапенков К.В.¹, Ярославов А.А.¹, Сыбачин А.В.¹,
Таранов И.В.², Черепенин В.А.², Гуляев Ю.В.², Хомутов Г.Б.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ

²Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН
ул. Моховая, 11, стр.7, г. Москва, 125009, РФ
e-mail: vp.kim@physics.msu.ru

Аннотация. Создание новых функциональных биосовместимых и биоактивных материалов и эффективных систем для капсулирования, адресной доставки и управляемого высвобождения различных веществ в водных средах, в том числе в живых системах, является в настоящее время актуальной задачей биологической физики и химии, а также ряда смежных областей, решение которой важно для практических биомедицинских применений. В данной работе нами получены и охарактеризованы новые нанокomпозитные биомиметические функциональные наносистемы на основе пленок Ленгмюра-Блоджетт, а также везикулы и капсулы на основе мембранных комплексов, включающих липиды, функциональные аминокислотосодержащие амфифильные соединения, полимеры (в том числе биополимеры) и функциональные неорганические наночастицы (Fe₃O₄ и Au). Исследования проводились методами просвечивающей электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии, электронного парамагнитного резонанса.

Ключевые слова: биомиметические наноструктуры, липосомы, ДНК, наночастицы магнетита.

BIOMIMETIC MONOLAYERS, FILMS AND MEMBRAN VESICLES BASED ON COMPLEXES OF AMPHIPHILIC SUBSTANCES, POLYMERS AND NANOPARTICLES

Kim V.P.¹, Potapenkov K.V.¹, Yaroslavov A.A.¹, Sybatchin A.V.¹,
Taranov I.V.², Cherepenin V.A.², Gulyaev Yu.V.², Khomutov G.B.¹

¹Moscow State University

Leninskie gory, 1, build. 2, Moscow, 119991, Russia

²Kotel'nikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences

Mokhovaya str., 11, build. 7, Moscow, 125009, Russia

e-mail: vp.kim@physics.msu.ru

Abstract. Creation of new functional biocompatible and bioactive materials and efficient systems for the encapsulation, drug delivery and controlled release of various substances in water environments, including in live systems, is an actual task of biophysics and chemistry and also for a number of allied sciences, solution of which is essential important for practical biomedical applications. In this work we have prepared and characterized novel nanocomposite biomimetic functional nanosystems on the basis Langmuir-Blodgett films, vesicles or capsules on the basis membrane complexes including lipids functional aminocontaining amphiphilic compounds, polymers (including biopolymers) and functional inorganic nanoparticles (Fe_3O_4 and Au). The fabricated systems have been investigated using transmission electron microscopy, atomic force microscopy, electron paramagnetic resonance.

Key words: biomimetic nanostructures, liposomes, DNA, nanoparticles of magnetite.

Одним из наиболее социально-важных и актуальных направлений современной фундаментальной и прикладной науки является создание новых эффективных биосовместимых и биоактивных наноматериалов и систем для капсулирования и адресной доставки лекарств и других биологически-активных веществ в определенное заданное место организма, обеспечивающих управляемое постепенное или единовременное высвобождение доставляемых соединений в заданном месте и в нужное время. Разработка таких систем требует решения сложного комплекса взаимосвязанных биологических, химических, физических и нанотехнологических задач, и привлекает всё больший интерес исследователей в ведущих исследовательских центрах мира. Основными вопросами, которые необходимо решить в рамках этой проблемы, являются следующие: как инкапсулировать и «адресно» доставить лекарственный препарат в определенное место (или места) организма на носителе и как обеспечить его контролируемое высвобождение от носителя. При этом также необходимо учитывать потенциальную токсичность используемых веществ и материалов с целью максимального уменьшения возможных побочных негативных воздействий на организм. В настоящее время разрабатываются и тестируются наноконтейнеры и носители лекарственных средств на основе полимеров, в том числе дендримеров, мицелл, липосом, фуллеренов, гидрогелей и т.п., а также исследуются возможности их активации и управляемого высвобождения инкапсулированных веществ под действием внешних физических или химических воздействий [1-4].

В последнее время благодаря развитию метода послойной полиионной сборки появился новый класс интересных микрообъектов – полиэлектролитные и нанокомпозитные полые микрокапсулы [5-7]. Микрокапсулы обладают рядом уникальных свойств (например, стенки микрокапсул могут изменять свою проницаемость при изменении химических параметров их локального окружения или под действием внешних физических воздействий), благодаря которым они в будущем могут найти широкое применение в медицине, биологии, химии и технологии. Установлена возможность управления проницаемостью оболочки микрокапсул посредством изменения величины pH раствора [8], действием лазерного излучения [9, 10], переменного магнитного поля [11] и воздействия СВЧ-излучения [12, 13]. Дистанционно управляемая целенаправленная адресная доставка лекарственных веществ с помощью нанокомпозитных полимерных микрокапсул, чувствительных к импульсному электромагнитному воздействию, позволит существенно повысить эффективность действия лекарственных препаратов, уменьшая при этом их общую концентрацию в организме, что особенно важно для специфических лекарств, обладающих выраженной токсичностью (например, медикаментов, применяемых в области лечения онкологических заболеваний).

Наряду с вышеописанными свойствами и перспективными применениями для инкапсулирования лекарственных соединений полиэлектролитные микрокапсулы обладают определенными недостатками, связанными с многостадийной и довольно трудоемкой процедурой их получения, затрудняющей создание технологий их массового производства. Также, существенные трудности связаны с капсулированием многих веществ, поскольку полиэлектролитная оболочка таких капсул имеет высокую проницаемость для низкомолекулярных соединений. Вышеуказанных недостатков лишены липидные биомиметические везикулы - липосомы, широко используемые в модельных биофизических исследованиях и весьма перспективные для биомедицинских применений [14, 15]. Важной отличительной чертой использования липосом в качестве основы для создания систем капсулирования и адресной доставки лекарств и других соединений является их биосовместимость, поскольку мембрану липосом обычно формируют из фосфолипидов (биогенные амфифильные молекулы, входящие в состав биологических мембран). Круг веществ, которые могут быть заключены в липосомы, чрезвычайно широк – от неорганических ионов и низкомолекулярных органических соединений до крупных белков и нуклеиновых кислот. Водорастворимые (гидрофильные) лекарственные вещества могут быть заключены во внутреннее водное пространство липосом, а жирорастворимые

(гидрофобные) – в бислойную липидную мембрану. Однако, традиционно получаемые фосфолипидные липосомы, как правило, характеризуются низкой стабильностью и относительно коротким временем жизни, что ограничивает возможности их практического применения и требует разработки новых эффективных функциональных липосомальных систем [16].

Новые подходы в создании липосомальных препаратов включают конструирование липосом, способных к управляемому выходу инкапсулированных веществ: такие липосомы могут подвергаться структурным изменениям в ответ на физико-химические стимулы. Примерами таких липосом являются термочувствительные липосомы, из которых при гипертермии происходит выход инкапсулированного лекарства, и pH-чувствительные липосомы, раскрытие которых происходит в кислой среде (так называемые флипипосомы - flipiposomes) [17, 18]. pH-чувствительные капсулы на основе липосом весьма перспективны для использования в адресной химической терапии онкологических заболеваний, поскольку величина pH в раковых клетках существенно понижена по сравнению с нормальными. Структура липосомальной мембраны и ее проницаемость могут существенно меняться также с помощью дистанционного физического воздействия – наложения внешнего электрического поля, обуславливающего известный эффект электропорации [19, 20]. Этот эффект открывает возможности для использования электромагнитных импульсов в качестве средства для дистанционной нетермической активации наноконтейнеров на основе липосом и контролируемого высвобождения их содержимого.

Перспективным подходом к решению задачи управления пространственной локализацией микроконтейнеров с лекарственными соединениями и их адресной доставки в организме является включение в их состав магнитных наночастиц, что открывает возможности дистанционного управления их пространственной локализацией и структурным состоянием при помощи внешних магнитных и электромагнитных полей. Идея целевой доставки терапевтических средств (таких как олигонуклеотиды, белки, лекарственные препараты) с использованием магнитного поля была предложена Виддер в 1978 г. [21]. В настоящее время наиболее широкое применение в биомедицине получили наночастицы магнитных оксидов железа (в основном, магнетита Fe_3O_4), что обусловлено их относительно низкой токсичностью, довольно высокой намагниченностью насыщения и стабильностью магнитных характеристик [22-24]. Биомедицинские применения магнитных наночастиц в основном связаны с диагностикой (биосенсоры, контрастные средства для магнито-резонансной томографии, маркеры биомолекул, биосепарация и пробоподготовка, исследования молекулярного взаимодействия) и адресным терапевтическим воздействием (целевая доставка терапевтических молекул, в том числе ДНК, управляемая локальная гипертермия опухолей и др.) [24].

Нам представляется, что новым и перспективным подходом к созданию систем для капсулирования, адресной доставки и управляемого высвобождения различных веществ в водных средах могут быть нанокомпозитные коллоидные везикулы и капсулы, представляющие собой гибридные конструкции, включающие липиды, поверхностно-активные соединения, полимеры (в том числе биополимеры), неорганические наночастицы и другие функциональные компоненты. При этом высвобождение инкапсулированных веществ может быть обеспечено внешними нетепловыми электромагнитными воздействиями, а также изменениями величины pH водной фазы.

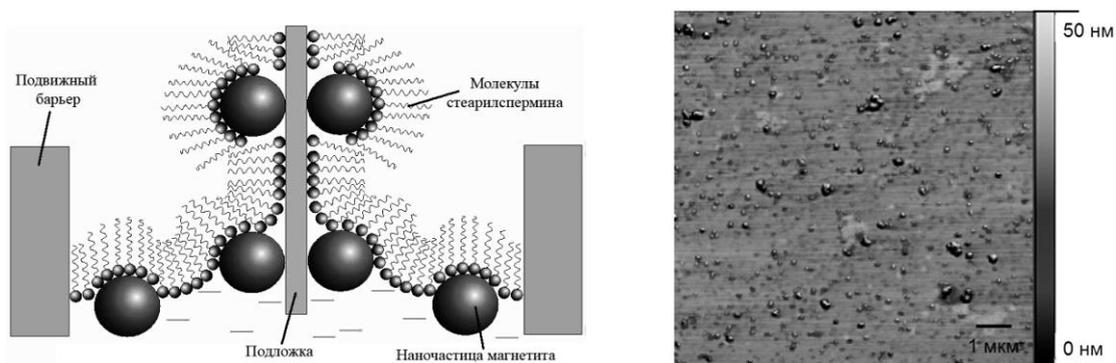


Рисунок 1 – Схематическое изображение нанесения монослоя стеарилспермина с наночастицами магнетита на подложку по технологии Ленгмюра-Блоджетт (слева) и изображение монослоя стеарилспермина с наночастицами магнетита на подложке, полученное методом АСМ (справа)

Нашей научной группой были проведены работы по синтезу оригинального амфифильного водонерастворимого аминокислотного соединения – стеароилспермина, из стеариновой кислоты и природного полиамина – спермина путем образования между ними пептидной (амидной) связи. Также была показана перспектива использования данного соединения в бionанотехнологиях за счет наличия функциональных аминокислотных групп, амфифильной природы соединения и отсутствия токсичности, а именно для создания липосом чувствительных к электромагнитным воздействиям. Формируя мономолекулярные слои из молекул стеарилспермина на водной поверхности методом Ленгмюра-Блоджетт, было установлено связывание стеарилспермина с присутствующими в водной субфазе наночастицами магнетита (см. рис. 1).

Были проведены исследования по синтезу биосовместимых нанокомпозитных везикул, а именно катионных липосом на основе фосфолипида фосфатидилхолина, функционализированных новым амфифильным веществом стеарилспермином (абсолютно биосовместимым, пригодным для встраивания в липидную мембрану липосом, молекулы которого содержат положительно-заряженную гидрофильную часть), наночастицами магнетита (чувствительными к электромагнитным полям), полимерными молекулами ДНК.

Метод синтеза двухкомпонентных липосом, содержащих молекулы фосфатидилхолина и стеарилспермина, заключался в ультразвуковом диспергировании липидных везикул в водной среде. Синтез наночастиц магнетита проводился по известному методу Массарта [25]. Комплексообразование липосом с наночастицами магнетита и полимерами проводилась в водном растворе за счет образования координационных связей и электростатического связывания. Таким образом, были синтезированы функциональные нанокомпозитные капсулы на основе липосом, наночастиц и полимеров. Размер полученных капсул составлял около 200 нм (см. рис. 2).

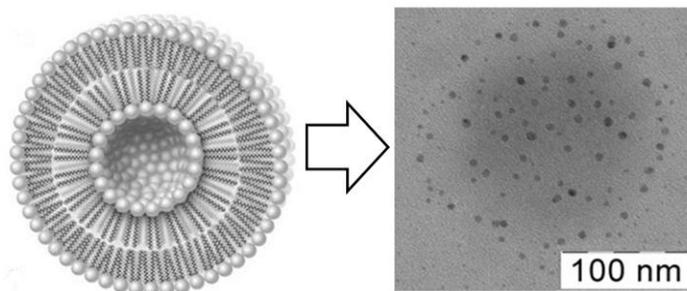


Рисунок 2 – Схематическое изображение липосомы (слева) и изображение синтезированной липосомы из фосфатидилхолина и стеарилспермина, функционализированных наночастицами магнетита, полученное методом ПЭМ (справа)

Для исследования возможности загрузки липосомы синтезировались в водном растворе соли NaCl. Таким образом, данное модельное низкомолекулярное вещество загружалось в самоорганизующиеся липосомальные капсулы, а остатки соли, находящиеся во внешней среде липосом, удалялись методом диализа (см. рис. 3).

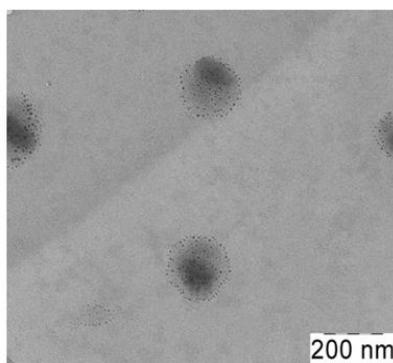


Рисунок 3 – Изображение, полученное методом ПЭМ, липосом, функционализированных наночастицами магнетита и содержащих соль NaCl

На примере связывания синтезированных липосом с молекулами ДНК была показана возможность функционализации полимерными молекулами таких капсул (см. рис. 4). Подобная функционализация способствует увеличению стабильности капсул и пролонгированному терапевтическому действию в организме. В свою очередь, исследование процессов структурообразования, в которых участвуют молекулы нуклеиновых кислот, представляется важным в связи с тем, что эти молекулы помимо биологической функции хранения и передачи наследственной информации обладают уникальной структурой, характеризуются механической прочностью и физико-химической стабильностью, и поэтому являются перспективными для создания на их основе структурных и функциональных элементов новых устройств и наноматериалов для нанобиотехнологий.

Также были проведены эксперименты по функционализации липосом на основе фосфатидилхолина и стеарилспермина золотыми нанородсами. Такие структуры являются более чувствительными к внешним электромагнитным воздействиям за счет своеобразной анизотропной вытянутой формы нанородсов (рис. 5).

Таким образом, результатом проведенных исследований являются синтезированные стабильные биосовместимые нанокомпозитные везикулы, потенциально чувствительные к дистанционному нетермическому электромагнитному воздействию [26]. Разработанные капсулы могут являться основой для развития нового подхода к терапии самых различных патологий, в том числе онкологических и нейродегенеративных заболеваний (Альцгеймера, Паркинсона и пр.).

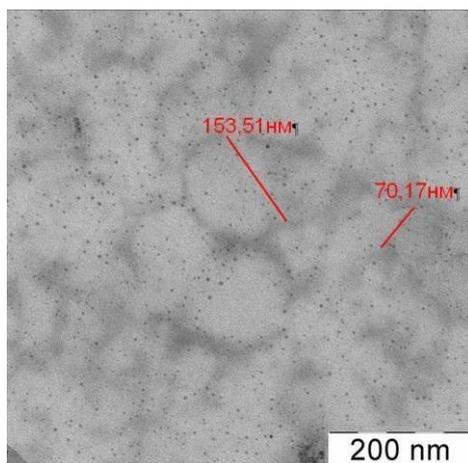


Рисунок 4 – Изображение, полученное методом ПЭМ, нанокompозитных липосом, состоящих из молекул фосфатидилхолина и стеарилспермина с адсорбированными наночастицами магнетита и молекулами нативной ДНК

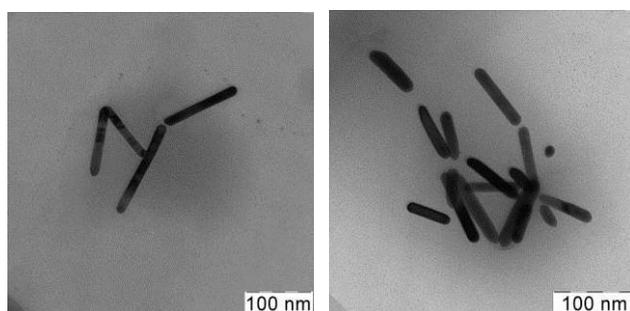


Рисунок 5 – Изображение, полученное методом ПЭМ, нанокompозитных липосом, состоящих из молекул фосфатидилхолина и стеарилспермина с адсорбированными золотыми нанородсами

Работа поддержана Российским научным фондом (проект 14-12-01379).

Список литературы / References:

1. Freeman A.I., Mayhew E. Targeted drug delivery. *Cancer*, 1986, vol. 58, pp. 573–583.
2. Svenson S., Robert K. Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery Applications: Imaging, Targeting, and Delivery Series. *Nanostructure Science and Technology*, Springer, 2012, 373p.
3. Parveen S., Misra R., Sahoo S.K. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2012, vol. 8, no. 2, pp. 147-166.
4. Kataoka K., Harada A., Nagasaki Y. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, vol. 47, no. 1, pp. 113–131.
5. Donath E., Sukhorukov G.B., Caruso F., Devis S.A., Möhwald H. Novel Hollow Polymer Shells by Colloid-Templated Assembly of Polyelectrolytes. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 1998, vol. 37, 2202 p.
6. Sukhorukov G.B., Donath E., Davis S.A., Lichtenfeld A., Caruso F., Popov V.I., Möhwald H. Stepwise polyelectrolyte assembly on particle surfaces: A Novel Approach to Colloid Design. *Polym. Adv. Technol.*, 1998, vol. 9, 759 p.
7. Radtchenko I.L., Sukhorukov G.B., Loporatti S., Khomutov G.B., Donath E., Mohwald H. Assembly of alternated multivalent ion/polyelectrolyte layers on colloidal particles. Stability of the multilayers and encapsulation of macromolecules into polyelectrolyte capsules. *J. Colloid. Interface Sci.*, 2000, vol. 230, no. 2, pp. 272-280.
8. Sukhorukov G.B., Antipov A., Voigt A., Donath E., Möhwald H. pH-Controlled Macromolecule Encapsulation in and Release from Polyelectrolyte Multilayer Nanocapsules. *Macromol. Rapid Commun.*, 2001, vol. 22, pp. 44-46.
9. Skirtach A.G., Antipov A.A., Shchukin D.G., Sukhorukov G.B. Remote activation of capsules containing Ag nanoparticles and IR dye by laser light. *Langmuir*, 2004, vol. 20, pp. 6988-6992.
10. Radt B., Smith T.A., Caruso F. Optically Addressable Nanostructured Capsules. *Adv. Mater.*, 2004, vol. 16, pp. 2184-2189.
11. Lu Z., Prouty M.D., Guo Z., Golub V.O., Kumar C.S.S.R., Lvov Y.M. Magnetic switch of permeability for polyelectrolyte microcapsules embedded with Co, Au nanoparticles. *Langmuir*, 2005, vol. 21, pp. 2042-2050.
12. Gorin D.A., Shchukin D.G., Mikhailov A.I., Kohler K., Sergeev S.A., Portnov S.A., Taranov I.V., Kislov V.V., Sukhorukov G.B. Effect of Microwave Radiation on Polymer Microcapsules Containing Inorganic Nanoparticles. *Technical Physics Letters*, 2006, vol. 32, no. 1, pp. 70-72.

13. Gorin D.A., Shchukin D.G., Koksharov Yu.A., Portnov S.A., Köhler K., Taranov I.V., Kislov V.V., Khomutov G.B., Möhwald H., Sukhorukov G.B. Effect of microwave irradiation on composite iron oxide nanoparticle/polymer microcapsules. *Proceedings of SPIE*, 2007, vol.6536, no. 653604.
14. Schwendener R.A. Liposomes in biology and medicine. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2007, vol. 620, pp. 117-28.
15. Lasic D.D. Liposomes: from physics to applications. *Elsevier, Amsterdam*, New York, 1993, 575 p.
16. Wagner A., Vorauer-Uhl K Liposome Technology for Industrial Purposes. *Journal of Drug Delivery*, 2011, article ID 591325, 9 p.
17. Koning G.A, Eggermont A.M., Lindner L.H., ten Hagen T.L.M. Hyperthermia and Thermosensitive Liposomes for Improved Delivery of Chemotherapeutic Drugs to Solid Tumors. *Springer Pharm Res.*, 2010, pp. 1750-1754.
18. Ranganathan1 R., Madanmohan S., Kesavan A., Baskar G., Ramia Y., Krishnamoorthy, Santosham R., Ponraju D., Rayala S.K., Venkatraman G. Nanomedicine towards development of patient-friendly drug-delivery systems for oncological applications. *International Journal of Nanomecine*, 2012, pp. 1043-1060.
19. Glaser R.W., Leikin S.L., Chernomordik L.V., Pastushenko V.F., Sokirko A.I. Reversible electrical breakdown of lipid bilayers – formation and evolution of pores. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1988, vol. 940, pp. 275-287.
20. Weaver J.C., Chizmadzhev Y. Theory of electroporation. *A review. Bioelectroch Bioener*, 1996, vol. 41, pp. 135-160.
21. Widder K.J., Senyei A.E., Scarpelli D.G. Magnetic microspheres:a model system for site specific drug delivery in vivo. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1978, vol. 58, pp. 141-146.
22. Giersig M., Khomutov G.B. (editors) Nanomaterials for application in medicine and biology. *Springer, Dordrecht*, The Netherlands, 2008, 188 p.
23. Amstad E., Textor M., Reimhult E. Stabilization and functionalization of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Nanoscale*, 2011, vol. 3, no. 7, pp. 2819-2843.
24. Gupta A.K., Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 2005, vol. 26, pp. 3995-4021.
25. Massart R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. *IEEE Transactions on Magnetics*, 1981, vol. 17, pp. 1247-1248.
26. Gulyaev Yu.V., Cherepenin V.A., Vdovin V.A. [et al.] Pulsed electric field-induced remote decapsulation of Nanocomposite liposomes with implanted conducting nanoparticles. *Journal of communications technology and electronics*, 2015, vol. 60, no. 10, pp. 1097-1108.

FLUORESCENCE TECHNIQUES FOR BIOINDICATION OF NANOMATERIALS TOXIC EFFECTS ON PHYTOPLANKTON

Matorin D.N., Protopopov F.F., Goryachev S.N., Bratkovskaja L.B.
Moscow State University
Vorobyevi Gory str., 1, 119892, Moscow, Russia
e-mail: matorin@biophys.msu.ru

Abstract. Perspectives of using fluorescence of chlorophyll methods for the assessment of toxic effects of nanomaterials on phytoplankton is analyzed. Measuring of light dependence curves of fluorescence allows changes in energy storage in photosynthetic processes in algal cells to be detected at early stages of phytoplankton exposure to modern nanomaterials.

Key words: nanomaterials, phytoplankton, chlorophyll fluorescence, photosynthesis, ecology.

Phytoplankton forms the basis of water ecosystems and determines their state and productivity. Various environmental factors and anthropogenic pollution first affect the concentration and photosynthetic activity of algal cells, in turn, changed photosynthetic activity of phytoplankton results in changes in other levels of aquatic ecosystems [1]. Changes in the amount and activity of algae in a waterbody, induced by anthropogenic factors, can markedly deteriorate the quality of aquatic environment. In some cases, this can present a direct threat for population health, owing to release of highly toxic substances by planktonic algae.

Characteristics of photosynthesis, which is the major energy storing process in algal cells [1, 2], can be used as an indicator of the physiological state of phytoplankton. Presently, the most pressing task is to develop methods, which allow early changes in the abundance and state of microalgae, induced by toxic pollutants to be continuously monitored in real time before the visible signs of ecosystem damage appear. Such integral information on the state of environment can be obtained with bioindication methods, which are based on registration of the response of natural phytoplankton populations. Bioindication methods can be used for continuous monitoring of water quality and for rapid detection of an increase toxic pollutants (nanomaterials). After obtaining positive signal from bioindication of the environment for integral toxicity, analytical methods can be additionally used to identify the chemical nature of the pollution. Bioindication methods should be informative, sensitive and operate in real time regime. Since algae form the base of aquatic ecosystems, they can be used as bioindicators of their habitats. The basic idea of the methods developed is research is that the fluorescence of chlorophyll, which is present in photosynthetic membranes, is a valuable source of information on the amount and state of algal cells [1, 3-5]. Fluorescence yield at a low intensity of exciting light (F_0)