

Міністерство освіти і науки України  
Національний університет водного господарства  
та природокористування

Навчально-науковий інститут агроекології та землеустрою  
Кафедра екології, технології захисту навколишнього середовища та  
лісового господарства

**05-02-420М**

### **МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ**

до виконання практичних робіт та самостійної роботи з  
навчальної дисципліни «Стійкі органічні забруднювачі в  
агросфері» для здобувачів вищої освіти першого  
(бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою  
«Технології захисту навколишнього середовища»  
спеціальності 183 «Технології захисту навколишнього  
середовища» денної та заочної форми навчання

Рекомендовано  
науково-методичною  
радою з якості ННІАЗ  
Протокол № 10 від 23 січня 2024 р.

Рівне – 2024

Методичні вказівки до виконання практичних робіт та самостійної роботи з навчальної дисципліни «Стійкі органічні забруднювачі в агросфері» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою «Технології захисту навколишнього середовища» спеціальності 183 «Технології захисту навколишнього середовища» денної та заочної форми навчання. [Електронне видання] / Бедункова О. О. – Рівне : НУВГП, 2024. – 36 с.

Укладач: Бедункова О. О., д.б.н, професор, професор кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства.

Відповідальний за випуск: Клименко М. О., д.с.-г.н., професор, завідувач кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства.

Керівник групи забезпечення спеціальності 183 «Технології захисту навколишнього середовища»

Статник І. І.

© О. О. Бедункова, 2024  
© НУВГП, 2024

## Зміст

Передмова.....	3
Визначення забруднення ґрунту нафтою та нафтопродуктами	4
Визначення вмісту сірководню в ґрунті, що забруднений нафтопродуктами.....	7
Динаміка форм азоту в водоймах та визначення вмісту аміаку за Неслером.....	9
Визначення нітритів за Гріссом.....	11
Визначення нітратного азоту.....	13
Біотестування фітотоксичності ґрунту за проростанням насіння крес-салату.....	15
Оцінка екологічного стану ґрунтів за ферментативною активністю.....	18
Оцінка токсичності ґрунту за азотфіксуючою активністю бульбочкових бактерій.....	23
Питання для самостійного опрацювання та підготовки рефератів.....	27
Приклади тестових завдань.....	28
Рекомендована література.....	33

## Передмова

Основним напрямком курсу «Стійкі органічні забруднювачі в агросфері» є вивчення навчальної дисципліни «Стійкі органічні забруднювачі в агросфері» є формування розуміння впливу стійких органічних забруднювачів (пестицидів, гербіцидів, фунгіцидів) на рослини, ґрунти, водойми та інші компоненти агросфери.

Дані методичні вказівки наводять 8 робіт, що містять теоретичну частину та відповідні методики, перелік питань для самостійного опрацювання, приклади тестових завдань та список рекомендованої літератури.

## **Робота № 1. Визначення забруднення ґрунту нафтою та нафтопродуктами**

### ***Основні поняття***

Суміші різних газоподібних, рідких і твердих вуглеводнів, які отримують з нафти і нафтових супутніх газів називають нафтопродуктами. Вони розподіляються на наступні групи: палива, нафтові масла, нафтові розчинники, тверді вуглеводні, бітуми нафтові, інші нафтопродукти. Проблема забруднення ґрунтів нафтопродуктами пов'язана з виникненням надзвичайних ситуацій, які супроводжуються їх аварійними виливами під час видобування, переробки, транспортування, зберігання та реалізації. Різні вуглеводні потрапляють у ґрунт на нафтобазах, бензоаправках і т.п.

Із потраплянням до ґрунту сирої нафти та нафтопродуктів починається процес їх фракціонування та розкладу. При цьому, легкі фракції нафти поступово випаровуються в атмосферу. Деяка частина нафти механічно виноситься з водою за межі площі забруднення, що може спричинити забруднення підземних вод. Частина нафти піддається хімічному та біологічному окисненню.

Нафта обволікає ґрунтові частки, ґрунт не змочується водою, гине мікрофлора, рослини не отримують належного живлення, частки ґрунту злипаються, а сама нафта поступово переходить у інший стан, її фракції стають більш окисненими, твердішають, та за високих рівнів забруднення ґрунт стає подібним до асфальтної маси.

Відновлювати ґрунт у таких випадках надзвичайно складно. При малих рівнях забруднення допомагає внесення добрив, які стимулюють розвиток мікрофлори і рослин. У результаті нафта частково мінералізується, деякі її фракції входять у склад гумінових речовин і ґрунт відновлюється. Але за великих доз і тривалих термінах забруднення в ґрунті відбуваються глибокі, незворотні зміни морфологічних, фізіологічних, фізико-хімічних, мікробіологічних властивостей, а деколи і суттєві зміни ґрунтового профілю, що призводить до втрат забрудненими ґрунтами родючості та відчуження територій із сільськогосподарського використання. В такому разі найбільш забруднені шари приходиться просто видаляти.

Класифікацію ґрунтів за ступенем забруднення проводять за гранично допустимими концентраціями (ГДК) хімічних речовин та їх фонового забруднення. Коефіцієнт концентрації забруднення ґрунту розраховується за формулою:

$$H_c = \frac{C}{C_{\text{ф}}}, \text{ або } H_c = \frac{C}{C_{\text{ГДК}}} \quad (1.1)$$

де  $C$  – загальний вміст забруднюючих речовин;  $C_{\text{ф}}$  – середній фоновий вміст забруднюючих речовин;  $C_{\text{ГДК}}$  – гранично-допустимий вміст забруднюючих речовин.

За ступенем забруднення ґрунти поділяються на:

- *сильнозабруднені* – ґрунти, в яких вміст забруднюючих речовин у декілька разів перевищує ГДК, мають низьку біологічну активність, суттєві зміни фізико-хімічних, хімічних та біологічних характеристик;

- *середньозабруднені* – ґрунти, для яких характерне деяке перевищення ГДК без суттєвих змін їх властивостей;

- *слабкозабруднені* – ґрунти, в яких вміст хімічних речовин не перевищує ГДК, але є вищим природного фону.

За ступенем стійкості ґрунту до хімічних забруднюючих речовин та за характером реакцій відгуку ґрунти поділяються на: дуже стійкі; середньостійкі; малостійкі.

Ступінь стійкості ґрунтів до хімічних забруднюючих речовин характеризується наступними основними показниками: гумусний стан ґрунту; кислотно-основні властивості; окисно-відновні властивості; катіонно-обмінні властивості; біологічна активність; рівень ґрунтових вод; частка речовин у ґрунті в розчиненій формі.

### ***Поряд проведення досліджень***

1. Для визначення вмісту нафтопродуктів у ґрунті ваговим методом відбирають пробу повітряно-сухого ґрунту вагою 30-100 г (див. роботу №1) та висушують до постійної ваги. Наважку ґрунту розміщують у колбу, додають хлороформ до вологого стану ґрунту. Потім кілька разів проводять екстракцію хлороформом. Для цього додають 10-15 см<sup>3</sup> хлороформу і перемішують. Процедура проводять до отримання в останні порції безколірного екстракту. Екстракт збирають в колбу та закривають гумовим корком.

Отриману хлороформну витяжку переносять у фарфорову чашку та випорюють на водяній бані або у витяжній шафі.

2. Для очищення отриманого екстракту готують колонку, що являє собою скляну трубку висотою 12-15 см діаметром 1 см. У нижню частину колонки розміщують шар скляної вати товщиною 1 см, потім заповнюють колонку оксидом алюмінію на 2-8 см та вкривають шаром скляної вати. Закріплюють колонку в штативі та за допомогою піпетки додають у неї 3-5 см<sup>3</sup> гексану. Під носик колонки розміщують зважений на аналітичній вазі порожній стаканчик місткістю 50 см<sup>3</sup>. Фільтраційна колонка готова до роботи.

3. Залишки хлороформу в стаканчику після випаровування розчиняють 5-10 см<sup>3</sup> гексану та переносять у колонку. Стаканчик споліскують 3 рази 2 см<sup>3</sup> гексану і теж переносять у колонку. Після закінчення фільтрації колонку промивають 2-3 порціями гексану (по 2-3 см<sup>3</sup>). При отриманні гексанового розчину нафтопродуктів, звільненого від полярних з'єднань, гексан випаровується за кімнатної температури. Після повного видалення гексану стаканчик зважують. Зважування продовжують протягом певних проміжків часу до тих пір, доки вага стаканчика стане незмінною.

4. Вміст нафтопродуктів (X, мг/кг ґрунту) розраховують за формулою:

$$X = \frac{A}{B} \cdot 1000 \quad (1.2)$$

де А – знайдена за різницею ваги стаканчика кількість нафтопродуктів, мг; В – наважка ґрунту, г.

через відсутність встановлених ГДК при забрудненні ґрунтів нафтою та нафтопродуктами об'єктивна оцінка забруднення проводиться шляхом порівняння з фоном (природний стан).

5. Роблять відповідні висновки про ступінь забруднення досліджуваного ґрунту нафтопродуктами.

**Обладнання, реактиви, матеріали:** вага аналітична; фільтраційна колонка висотою 12-15 см; конічні колби ємністю 150 та 250 см<sup>3</sup>; хімічний стакан місткістю 50 см<sup>3</sup>; фарфорова чашка; водяна баня; сушильна шафа; мірний циліндр місткістю 10 см<sup>3</sup>; н-Гексан (х.ч.); хлороформ (х.ч.); оксид алюмінію (безводний, ч. активований за t 600±10 °С протягом 4 год.); скляна вата.

## **Робота № 2. Визначення вмісту сірководню в ґрунті, що забруднений нафтопродуктами**

### ***Основні поняття***

За участі анаеробних мікроорганізмів у ґрунтах відбуваються різні процеси руйнування органічних речовин. Деякі бактерії використовують для окиснення органіки кисень сульфатів і виділяють при цьому сірководень. Такі процеси спостерігаються на болотах, у зонах припливів та відпливів, в гирлах річок, у деяких ґрунтах, де міститься велика кількість органічних речовин.

Сірководень  $H_2S$  – безколірний газ, розчинний у воді та органічних розчинниках, є сильним відновником. Водний розчин  $H_2S$  має кислу реакцію і являється слабкою кислотою. ГДК сірководню в ґрунті 0,4 мг/кг.

Дана методика призначена для визначення в ґрунті  $H_2S$  у місцях, де постійно присутнє забруднення нафтопродуктами, особливо в прибережних ґрунтах річок та інших водойм, до яких надходять стічні води, що містять нафтопродукти.

Визначення засноване на окисненні сірководню йодом, який виділяється при взаємодії йодиду калію з  $KMnO_4$  в кислому середовищі. Нижня та верхня межа чутливості становлять відповідно 0,32 мг/кг та 2300 мг/кг ґрунту. Точність вимірювання 25%.

### ***Поряд проведення досліджень***

1. До конічної колби вносять 100 г ґрунту, приливають 200 мл бідистильованої води, колбу закривають корком та струшують 3 хв. Після цього розчин фільтрують крізь складчастий фільтр.

2. 100 мл отриманого фільтрату вносять до конічної колби і додають декілька крапель  $H_2SO_4$ , приливають 1 мл 10% розчину  $KCl$ , збовтують та приливають з бюретки 0,01 М розчин  $KMnO_4$  до появи жовтого забарвлення.

3. Надлишок йоду відтитрують розчином  $Na_2S_2O_3$ , додаючи до кінця титрування кілька крапель 1% розчину крохмалю.

4. Різницю між об'ємами прилитого 0,01 М розчину  $KMnO_4$  та розчину  $Na_2S_2O_3$ , що пішов на титрування, відповідає кількості 0,01 М розчину йоду, що витратився на окиснення  $H_2S$  у 100 мл фільтрату: 1 мл 0,01 н розчину йоду відповідає 0,17 мг  $H_2S$ .

5. Наприклад, якщо різниця між об'ємами 0,01 М  $\text{KMnO}_4$  та розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , що пішов на титрування становить 3 мл, то вміст  $\text{H}_2\text{S}$  у 100 мл фільтрату становить:  $0,17 \cdot 3 = 0,51$  мг. У 200 мл фільтрату, тобто в 100 г ґрунту міститься 1,02 мг  $\text{H}_2\text{S}$ . Звідси: концентрація (С, мг/кг) у ґрунті  $\text{H}_2\text{S}$  становить:

$$C = 1000 \cdot \frac{1,02}{100} = 10,2 \text{ мг/кг} \quad (2.1)$$

6. Одночасно з аналізом зразку ґрунту визначають його вологість (див. роботу №2) для перерахунку на абсолютно сухий ґрунт

7. Після з'ясування вологості досліджуваного ґрунту (W, % з точністю до 0,1%), проводять уточнені розрахунки.

8. Концентрація досліджуваної речовини ( $\text{H}_2\text{S}$ ) у ґрунті визначається як:

$$C = \frac{A}{B} \cdot K \quad (2.2)$$

де А – кількість досліджуваної речовини, визначеної в пробі, мкг/кг; В – маса досліджуваного ґрунту, г; К – коефіцієнт перерахунку на абсолютно сухий ґрунт:

$$K = \frac{100}{100 - W} \quad (2.3)$$

9. Проміжні та основні результати фіксують у журналі (щоденнику спостережень) та роблять відповідні висновки та узагальнення.

**Обладнання, реактиви, матеріали:** апарат для збовтування; папір фільтрувальний; конічна колба на 200 мл з корком; піпетка на 1 мл; бюретки для титрування; лійка; бюкс; сушильна шафа; ексікатор (конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  або зневоднений  $\text{CaCl}_2$ ); калій перманганат  $\text{KMnO}_4$ , х.ч., 0,01 М розчин; натрій тіосульфат  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,005 М розчин: розчиняють 0,79 г у колбі ємністю 1 л у бідистильованій воді; сірчана кислота  $\text{H}_2\text{SO}_4$  щільн. 1,84 г/см<sup>3</sup>, розведена 1:3; калій йодид KI, х.ч., 10% розчин; крохмаль розчинний, 1% розчин.



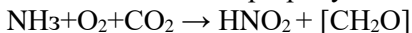
### Робота №3. Динаміка форм азоту в водоймах та визначення вмісту аміаку за Неслером

#### *Основні поняття*

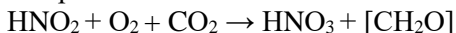
У природній воді аміак утворюється при розкладі азотовмісних органічних речовин. Добре розчинний у воді з утворенням гідроксиду амонію. В санітарно-гігієнічній практиці, поряд з такими обов'язковими показниками як окислюваність, кількість бактерій і БСК, визначають концентрації трьох сполук азоту: аміаку, нітратів та нітритів. Це необхідно робити тому, що форми азоту не тільки індикатори органічного забруднення водойм і ступеня їх мінералізації, а й індикатори їх токсичності.

У літературі описано багато випадків в країнах Європи, Америки токсичного ціанозу у немовлят зі смертельними наслідками, які супроводжувались метагемоглобінемією. Причиною захворювання був високий вміст нітратів у воді, яка використовувалась для розбавлення дитячої суміші при штучному годуванні дітей.

Аміак накопичується у воді в процесі дезамінування в результаті протеолізу білків рослинного і тваринного походження, яке здійснюють гетеротрофні гнилості (амоніфікуючі) бактерії в аеробних і анаеробних умовах в результаті автолізу клітин. Потім аміак окислюється мікроорганізмами в аеробних умовах до нітритів. Цю функцію здійснюють бактерії роду *Nitrosomonas*.



Нітрити, внаслідок дії бактерій роду *Nitrosomonas* на другому етапі процесу нітрифікації, окислюються до нітратів, які являються основою для живлення рослин:

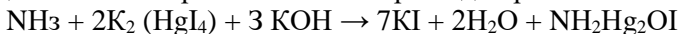


Таким чином, гнилостні бактерії і нітрифікатори здійснюють процес самоочищення водойм і являються однією з основних ланок в кругообігу азоту водойм.

Якщо взяти воду в якусь посудину, поставити її за кімнатної температури, то через деякий час буде спостерігатися посилення запаху аміаку у воді. Це свідчить про її органічне забруднення, тому що в цій воді посилюються бактеріальні процеси розкладу органічних речовин з виділенням аміаку.

Метод визначення аміаку оснований на утворенні сполуки

жовтого кольору йодистого меркурамонію, яка утворюється при взаємодії іона  $\text{NH}_4^+$  з реактивом Неслера згідно рівняння:



### **Порядок проведення досліджень**

1. В мірну колбу на 100 мл наливають на 2/3 досліджуваної води. До досліджуваної води приливають 2 мл сегнетової солі і 2 мл реактиву Неслера. Розчин ретельно перемішують, доводять до мітки досліджуваною водою і через 5 хвилин відстоювання фотоколориметрують. Світлофільтр - 440 нм, кювета з товщиною поглинаючого шару 10 мм.

2. Паралельно готують і холосту пробу (дистильована вода з додаванням усіх реактивів). Розрахунок проводять за формулою :

$$X = 100 \cdot C / V \quad (3.1)$$

де  $X$  - кількість аміаку в  $\text{мг}/\text{дм}^3$ ;  $C$  - концентрація аміаку, визначена за калібрувальним графіком,  $\text{мг}/\text{дм}^3$ ;  $V$  - об'єм води, який взятий для визначення, мл.

Рибогосподарський норматив для вод першої категорії водокористування по аміаку дорівнює 0,5-0,75  $\text{мг}/\text{дм}^3$ . Норматив для питної води становить 0,5  $\text{мг}/\text{дм}^3$ . Екологічний оптимум для водойм - 0,5 - 0,75  $\text{мг}/\text{дм}^3$ .

3. Для перерахунку  $\text{NH}_3$  в загальний азот отриманий результат ділять на коефіцієнт 1,285:

$$K = \text{Mг}(\text{NH}_4^+) / \text{Mг}(\text{N}) = 1,28 \quad (3.2)$$

де  $M_2(\text{NH}_4^+)$  - молекулярна вага  $\text{NH}_4^+$ ;  $M_2(\text{N})$  - молекулярна вага N.

4. Отримані результати представляють у вигляді таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Результати аналізу заносимо в таблицю

Досліджувані зразки води	Об'єм води, взятий для визначення, мл	Концентрація $\text{NH}_4^+$ , визначена за графіком, $\text{мг}/\text{л}$	Концентрація $\text{NH}_4^+$ , $\text{мг}/\text{л}$	Концентрація $\text{NH}_4^+$ , $\text{мг}/\text{л}$

**Обладнання, реактиви, матеріали:** мірні колби на 100 мл; піпетки на 2 мл; кювети на 10 мл; КФК – 2; сегнетова сіль; реактив Неслера.

## Робота №4. Визначення нітритів за Гріссом

### *Основні поняття*

Нітрити є проміжною ланкою в ланцюзі бактеріальних процесів окислення амонію до нітратів (нітрифікація - тільки в аеробних умовах) і, навпаки, відновлення нітратів до азоту та аміаку (денітрифікація - при нестачі кисню). Подібні окислювально-відновні реакції характерні для станцій аерації, систем водопостачання і власне природних вод. Крім того, нітрити використовуються в якості інгібіторів корозії у процесах водопідготовки технологічної води і тому можуть потрапити і в системи господарсько-питного водопостачання. Широко відомо також застосування нітритів для консервування харчових продуктів.

У поверхневих водах нітрити знаходяться в розчиненому вигляді. У кислих водах можуть бути присутні невеличкі концентрації азотистої кислоти ( $\text{HNO}_2$ ) не дисоційованої на йони. Підвищений вміст нітритів вказує на посилення процесів розкладання органічних речовин в умовах більш повільного окислювання  $\text{NO}_2^-$  в  $\text{NO}_3^-$ , що вказує на забруднення водного об'єкта, тобто є важливим санітарним показником.

Концентрація нітритів у поверхневих водах складає соті (іноді навіть тисячні) частки міліграма в  $1 \text{ дм}^3$ ; у підземних водах концентрація нітритів звичайно вище, особливо у верхніх водоносних горизонтах (соті, десятки частки міліграма в  $1 \text{ дм}^3$ ).

Сезонні коливання вмісту нітритів характеризуються відсутністю їх зимою і появою навесні при розкладанні неживої органічної речовини. Найбільша концентрація нітритів спостерігається в кінці літа, їхня присутність пов'язана з активністю фітопланктону (встановлена здатність діатомових і зелених водоростей відновлювати нітрати до нітритів). Восени вміст нітритів зменшується.

Для нітритів ГДК<sub>в/г</sub> встановлена в розмірі  $3,3 \text{ мг/дм}^3$  у вигляді йона  $\text{NO}_2^-$  або  $1 \text{ мг/дм}^3$  у перерахунку на азот. ГДК<sub>п/г</sub> -  $0,08 \text{ мг/дм}^3$  у вигляді йона  $\text{NO}_2^-$  або  $0,02 \text{ мг/дм}^3$  у перерахунку на азот.

Відповідно до вимог глобальної системи моніторингу стану навколишнього середовища (ГСМНС/GEMS) нітрит і нітрат-іони входять у програми обов'язкових спостережень за складом питної води і є важливими показниками ступеня забруднення і трофічного

статусу природних водойм.

Однією з особливостей розподілу нітритів по глибині водного об'єкта є добре виражені максимуми, звичайно поблизу нижньої межі термоклину і в гіполімніоні, де концентрація кисню знижується найбільш різко.

### **Поряд проведення досліджень**

1. У мірну колбу на 100 мл наливають на 2/3 досліджуваної води. Паралельно готують холостий дослід з дистильованою водою. В колбу приливають 5 мл реактиву Грісса. Розчин перемішують, доводять досліджуваною водою до мітки і через 20 хвилин фотокolorиметрують.

2. Розрахунок проводять за формулою:

$$X = 100 \cdot C / V \quad (4.1)$$

де  $X$  - кількість нітритів в мг/дм<sup>3</sup>;  $C$  - концентрація нітритів, визначена за калібрувальним графіком, мг/дм<sup>3</sup>;  $V$  - об'єм води, який взятий для визначення, мг/дм<sup>3</sup>.

3. Для перерахунку NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у мг/дм<sup>3</sup> на NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у мгN/дм<sup>3</sup> отриману величину ділять на коефіцієнт 3,28.

Рибогосподарський норматив для 1-ої категорії водокористування становить 0,022 мгN/дм<sup>3</sup>; для питної води - мгN/дм<sup>3</sup>; екологічний оптимум - до 0,022 мгN/дм<sup>3</sup>.

4. Результати аналізу заносять у таблицю 4.1.

Таблиця 4.1

Результати аналізу визначення нітритів у пробах води

Досліджувані зразки води	Об'єм води, взятий для визначення, мл	Концентрація NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , визначена за графіком, мг/л	Концентрація NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	Концентрація NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг N/л

**Обладнання, реактиви, матеріали:** мірні колби на 100 мл; кювета на 10 мм; піпетки на 5 мл; КФК-2; реактив Грісса; дистильована вода.

## Робота №5. Визначення нітратного азоту

### *Основні поняття*

Присутність нітратних йонів у природних водах пов'язана з: процесами нітрифікації амонійних йонів за участі кисню під дією нітрифікуючих бактерій; атмосферними опадами, які поглинають утворені при атмосферних електричних розрядах оксиди азоту (концентрація нітратів в атмосферних опадах сягає 0,9 - 1 мг/дм<sup>3</sup>); промисловими і господарсько-побутовими стічними водами, особливо після біологічного очищення, коли концентрація сягає 50 мг/дм<sup>3</sup>; стоком із сільськогосподарських угідь на яких застосовуються азотні добрива.

Головними процесами, спрямованими на зниження концентрації нітратів, є споживання їх денітрифікуючими бактеріями і фітопланктоном, які за нестачі кисню використовують кисень нітратів для окислювання органічних речовин.

У поверхневих водах нітрати знаходяться в розчиненій формі. Концентрація нітратів у поверхневих водах схильна до сезонних коливань: мінімальна у вегетаційний період, вона збільшується восени і досягає максимуму зимою, коли при мінімальному споживанні азоту відбувається розкладання органічних речовин і перехід азоту з органічних форм у мінеральні. Амплітуда сезонних коливань може служити одним з показників евтрофікації водного об'єкта.

У незабруднених поверхневих водах концентрація нітрат-йонів не перевищує величин порядку мікро десятків в 1 мгN/дм<sup>3</sup>. З посиленням евтрофікації абсолютна концентрація нітратного азоту і його частки у сумі мінерального азоту зростають, досягаючи  $n \cdot 10^{-1}$  мг/дм<sup>3</sup>.

У незабруднених підземних водах вміст нітратних іонів звичайно виражається сотими, десятими частками міліграма і рідше одиницями міліграмів у 1 дм<sup>3</sup>. Підземні водоносні пласти більш схильні до нітратного забруднення, ніж поверхневі водойми.

За тривалого вживання людиною питної води і харчових продуктів, що містять значні кількості нітратів (від 25 до 100 мг/дм<sup>3</sup> по азоту), різко зростає концентрація метгемоглобіну в крові. Вкрай важко протікають метгемоглобінемії у грудних дітей (насамперед, на штучному вигодовуванні молочними сумішами, приготованими

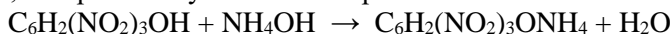
на воді з підвищеним - порядку 200 мг/дм<sup>3</sup> - вмістом нітратів) і в людей, що страждають серцево-судинними захворюваннями.

Присутність нітрату амонію в концентраціях порядку 2 мг/дм<sup>3</sup> не викликає порушення біохімічних процесів у водоймі; гранична концентрація цієї речовини, що не впливає на санітарний режим водойми, 10 мг/дм<sup>3</sup>. Шкідливі концентрації сполук азоту (у першу чергу, амонію) для різноманітних видів риб складають величини порядку сотень міліграмів у 1 дм<sup>3</sup> води.

Визначення нітратів проводять за методом, який базується на взаємодії нітратів з дисульфофеноловою кислотою:



Пікринова кислота, що утворюється переводиться в пікрат амонію, забарвлений у жовтий колір:



### ***Порядок проведення досліджень***

1. Залежно від вмісту у воді нітратів відбирають піпеткою від 10 до 100 мл досліджуваної води і наливають у фарфорову чашку. Воду випарюють досуха. В охолоджену чашку обережно приливають 1 мл дисульфофенолової кислоти і ретельно перемішують скляною паличкою. Через 10 хвилин додають 10 мл дистильованої води та приблизно 10 мл 20% розчину їдкого калію (до лужної реакції). При наявності нітратів з'являється жовте забарвлення. Рідину переносять в мірну колбу на 100 мл, доливають до риски дистильованою водою і фотоколориметрують при довжині хвилі 440 нм. Паралельно готують холосту пробу (з дистильованою водою).

2. Розрахунок здійснюють за формулою:

$$X = 100 \cdot C / V \quad (5.1)$$

де  $X$  - кількість нітратів в мг/дм<sup>3</sup>;  $C$  - концентрація нітратів, визначена за калібрувальним графіком, мг/дм<sup>3</sup>;  $V$  - об'єм води, який взятий для визначення, мл. Для перерахунку  $\text{NO}_3^-$  у мг/дм<sup>3</sup> на  $\text{NO}_3^-$  у мгN/дм<sup>3</sup> отриману величину ділять на коефіцієнт 4,43.

Рибогосподарський норматив для 1-ої категорії водокористування становить 1,0-0,75 мг N/л; для питної води - 0,75 мг N/л; екологічний оптимум - 0,75 мг N/л.

3. Результати аналізу зводять до в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

## Результати визначення азоту нітратного у пробах води

Досліджувані зразки води	Об'єм води, взятий для визначення, мл	Концентрація NO <sub>3</sub> визначена за графіком, мг/дм <sup>3</sup>	Концентрація NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	Концентрація NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг N/дм <sup>3</sup>

**Обладнання, реактиви, матеріали:** мірні колби на 100 мл; фарфорові чашки на 50 мл; піпетки на 1 та 10 мл; скляні палички; кювети на 10 мм; КФК-2; дисульфохенолова кислота; їдкий калій 20% розчин.

**Робота № 6. Біотестування фітотоксичності ґрунту за проростанням насіння крес-салату**

***Основні поняття***

**Фітотоксичність** - здатність деяких груп хімічних сполук і продуктів метаболізму мікроорганізмів здійснювати негативний вплив на рослинні організми, що проявляється у порушенні багатьох фізіологічних процесів.

Нераціональне і науково необґрунтоване застосування різних агротехнологій призводить до зміни екологічного стану ґрунтового середовища, що в веде до перебудови мікробного ценозу і викликає розмноження токсинсинтезуючих мікроорганізмів, накопичення токсичних продуктів фенольного ряду, які утворюються в процесі розкладу рослинних решток і накопичення фітотоксичних форм мікроорганізмів.

Фітотоксичні форми є в усіх основних груп ґрунтових мікроорганізмів, але найбільша їх кількість виявлена серед мікроскопічних грибів (*Penicillinase*, *Aspergillus*, *Fusarium*) та бактерій родини *Pseudomonas*, *Bacillus*.

Крім фітотоксинів мікроорганізмів та продуктів розкладу залишків сільськогосподарських культур існують також прижиттєві виділення надземних органів рослин та їх кореневі виділення. Наприклад, при беззмінному вирощуванні конюшини, люцерни, льону метаболізм їх кореневих систем призводить до значної «ґрунтовтоми» та появи фітотоксичності ґрунту.

Хімічна природа фітотоксичних речовин (колінів), що обумовлюють токсичні властивості ґрунту, дуже різноманітна. Це похідні фенолів, хінонів і нафтизину, поліпептиди й інші сполуки.

Крім того, фітотоксичність ґрунту може обумовлюватись внесенням пестицидів, осіданням важких металів, випаданням кислотних опадів тощо.

Розглядаючи фітотоксичність, або «ґрунтовтому» з екологічної точки зору, можна охарактеризувати це явище як кризу і дисгармонію в відношеннях рослин і ґрунтового покриття.

Впровадження біотестування дозволяє істотно скоротити обсяг регулярно виконуваних детальних хімічних аналізів. На відміну від фізичних та хімічних підходів до оцінки забруднення ґрунту, біологічне тестування має прогностичне значення. За станом організмів, їх здатності до розвитку можна прогнозувати зміни, які очікують біоту при даному рівні забруднення середовища проживання (проростання).

Вибір тест-організмів визначається їх поширеністю, простотою утримання й культивування в лабораторії, низькою вартістю, легкістю спостережень за дією забруднювачів на організм і наявністю простих методик таких спостережень. Одночасно, при оцінці субстратів із низьким вмістом токсикантів тест-об'єкт (тест-організм) повинен бути досить чутливим до присутності в середовищі чужорідної хімічної речовини. Крім цього, необхідно визначити правила обробки даних і інтерпретації отриманих результатів.

Крес-салат (*Lepidium sativum*) – однорічна овочева рослина род. Капустяні (*Brassicaceae*), використовується як рання зелень, швидко ростуча, відрізняється гарним сходженням, а також дуже чутлива до забруднення ґрунтів колінами та важкими металами, а також атмосферного повітря газоподібними викидами автотранспорту.

### **Методика виконання досліджень**

1. Попередньо перевіряють насіння на сходження (відсоток пророслого насіння від числа посіяних): норма 90-95% пророслого насіння за температури 20-25 °С за 3-4 доби. Для цього розміщують насіння на вкритий фільтрувальним папером просіяний та вологий стерильний річний пісок шаром 0,4-0,6 см. Вологість



досліджуваного зразка ґрунту з піском перед посівом насіння повинна бути в межах 70-80% від повної вологості.

2. Дослідний субстрат розміщують у чашках Петрі (проби ґрунту, які були відібрані з досліджуваної території) розкладають по 100 насінин на приблизно однаковій відстані одна від одної, присипають тим же субстратом та зволожують (до 70-80% від повної вологості). Повторність для кожного варіанту досліду та контролю – не менше трьох чашок.

3. В якості контролю використовують стерильний річний пісок. У всіх досліджуваних зразках вага ґрунту в чашках Петрі, а також шар нанесеного піску, повинні бути однаковими.

4. Дослід повинен тривати 4-10 діб при підтриманні вологості субстратів та температури приміщення (20-25 °С) на одному рівні.

5. Кожної доби фіксують дані по кількості пророслого насіння (табл. 6.1).

Таблиця 6.1  
Результати біотестових досліджень з пророщування насіння кресс-салату

Субстрат	Кількість пророслого насіння, %				Схожість, %
	1 доба	2 доба	....	10 доба	
Контроль					
Варіант 1					
Варіант 2					

6. При розрахунках фітотоксичності ґрунту, схожість в контролі приймається за 100%. Наприклад, у контролі зійшли 85 насінин зі 100. А в певному варіанті схожість за середньою величиною повторностей становила 21 насінину.

Тоді:  $85 = 100\%$ ;  $21 = X$ ;  $X = 25\%$ .

Отже, фітотоксичність ґрунту, або відсоток інгібування схожості обчислюється як:  $100 - 25 = 75\%$ .

7. Необхідно мати на увазі, що на родючому ґрунті (гумусовому, добре аерованому) схожість та якість паростків завжди краще, ніж на важкому, глинистому. Тому субстрат краще стандартизувати (якщо ґрунти різні) та використовувати водні витяжки.

8. Дані за повторюваністю кожного варіанту обробляють математично та визначають достовірність різниці між дослідом та контролем за критерієм Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ).

9. Рівні забруднення субстрату оцінюють за шкалою:

- забруднення відсутнє – схожість 90-100%, паростки однорідні, щільні, міцні, рівні;

- забруднення слабе – схожість 60-90%, паростки майже однакової довжини, міцні, рівні;

- забруднення середнє – схожість 20-60%, паростки тонкі та короткі порівняно з контролем, деякі можуть мати морфологічні порушення;

- забруднення значне – схожість дуже низька (до 20%) паростки дрібні та морфологічно спотворені.

**Обладнання, реактиви, матеріали:** проби ґрунту, стерильний річковий пісок, насіння крес-салату, чашки Петрі.

## **Робота № 7. Оцінка екологічного стану ґрунтів за ферментативною активністю**

### ***Основні поняття***

Оскільки ґрунт є екологічним вузлом зв'язків біосфери, де найбільш інтенсивно відбувається взаємодія живої та неживої матерії, він акумулює забруднення у значно більших обсягах, ніж атмосфера та природні води. В кумулятивному ефекті полягає особлива небезпека забруднень ґрунтів. Щоправда, деякі забруднювачі можуть швидко інактивуватись в ґрунті (закисні форми вуглеводнів, більшість пестицидів, нафтопродукти). У самоочищенні ґрунтів від забруднень головну роль відіграють ґрунтові мікроорганізми, а швидкість цього процесу, звичайно, значно вища, ніж природних вод або атмосфери.

Для контролю за змінами у ґрунтах, які виникають при надходженні до них забруднювачів можна використовувати показники, що характеризують ферментативну активність ґрунту. Рівень ферментативної активності ґрунту є не тільки важливим показником родючості ґрунту та фізіологічних процесів у рослинах, які є частиною екологічної підсистеми “ґрунт-рослина”, але й характерним показником токсичності політанта при дії його на ґрунт. Оцінка ферментативної активності, дає повне уявлення та

розкриває механізми функціонування біологічної складової ґрунту і дає змогу оцінити та спрогнозувати загальний напрям ґрунтоутворення і стан екосистем в цілому.

Прямий показник ферментативної активності ґрунту це *інтенсивність розкладу клітковини*. Щорічно у ґрунт надходить значна кількість рослинних залишків, які на 40-70% складаються з целюлози (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>. Вона стійка до дії фізичних та хімічних факторів, але під дією ферментів целюлозо розкладаючих мікроорганізмів (ЦРМ) швидко утилізується. ЦРМ здійснюють мінералізацію клітковини рослинних залишків, тобто забезпечують одну з необхідних ланок кругообігу речовини в біосфері.

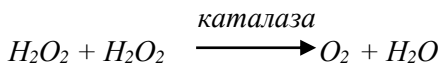
Клітковину розкладають аеробні мікроорганізми (бактерії, актиноміцети, гриби) та анаеробні бактерії.

При аеробному розкладі глюкоза перетворюється до CO<sub>2</sub> і H<sub>2</sub>O. При анаеробному вона піддається процесу бродіння, в результаті якого утворюються чимало органічних речовин (кислоти, спирти тощо).

Інтенсивність целюлозолітичної активності ґрунтів визначають за відсотком втрати зразка лляної тканини, що була розміщена за профілем ґрунту на певний проміжок часу. Величина розкладу тканини більша у ґрунтах з високим ступенем родючості та малою кількістю забруднювачів.

Від ряду хімічних та фізичних властивостей ґрунтів залежить і показник *каталазної активності*.

У результаті різних біохімічних реакцій окислення в ґрунті утворюється отруйний для організмів перекис водню, який здатний розкласти фермент каталаза. Каталаза широко представлена в клітинах ґрунтових мікроорганізмів. Цей фермент каталізує реакцію розкладу перекису водню на воду та молекулярний кисень:



Метод визначення каталазної активності ґрунту полягає у встановленні кількості молекулярного кисню, який виділяється при розпаді перекису водню у процесі взаємодії його з ґрунтом (газометричний спосіб).

### **Порядок проведення досліджень**

Для з'ясування активності целюлозо розкладаючих мікроорганізмів (целюлозолітичної активності ґрунту) виконуються наступні дії:

1. Готують тестові полотна з невідбіленої лляної тканини, розміром 10x30 см. Кожне полотно нумерується та попередньо зважується на аналітичних вагах з точністю до 0,1 г. Дані заносяться в журнал спостережень.

2. До кожного полотна акуратно пришиваються поліетиленові накладки, які виступають на 1 см з кожного краю лляної тканини.

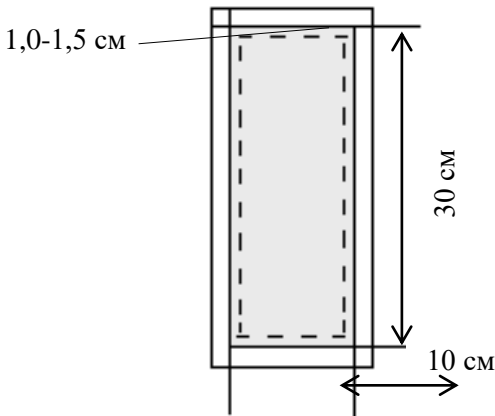


Рис. 7.1. Схема виготовлення тестового полотна

3. На ґрунтах досліджуваної території викопуються лунки, в яких один бік має бути вертикально зачищений (приладдям з інертного матеріалу) на глибину близько 35-40 см.

4. До зачищеної сторони прикладаються тестові полотна, при цьому з ґрунтом контактує лляна тканина. Лунка засипається вибраним ґрунтом, а місце прикопки позначається.

5. Як правило, термін експозиції триває від 10 до 30 днів (залежно від температури, вологості ґрунту та завдань досліджень). Кожен варіант і контроль витримуються однаковий час та передбачають трикратну повторність. В якості контролю слугує той самий тип ґрунту на ділянці, що не зазнає негативного впливу зовнішніх чинників.

6. По закінченню експозиції тестові полотна обережно відкопують та ретельно вибирають всі фрагменти льняної тканини. Кожне полотно розміщують в окремий пакет та доставляють у лабораторію.

7. Ретельно слідкуючи за нумерацією полотен, залишки льняної тканини відділяють від поліетиленової накладки, промивають водопровідною водою і просушують до повного висихання. Після чого проводять їх повторне зважування.

8. Ступінь розкладу тканини визначають як різницю ваги полотна до та після експозиції, виражену у відсотках.

9. Про екологічний стан досліджуваного ґрунту судять за оціночною шкалою, що наведена у табл. 7.1.

Таблиця 7.1

Шкала для оцінки ступені збагаченості ґрунтів ферментами

Ступінь збагачення ґрунтів	ЦРМ, %	Каталаза, мгО <sub>2</sub> /г/хв.
1. Дуже бідний	20	менше 1
2. Бідний	30	1 – 3
3. Середнє збагачення	38	3 – 10
4. Збагачений	43	10 – 30
5. Дуже збагачений	58 і більше	більше 30

Каталазну активність ґрунту оцінюють за наступною схемою:

1. Наважку (1г) ґрунту розміщують у колбу з об'ємом 100 мл. На дно колби за допомогою пінцета ставлять маленький стаканчик з 5 мл 5%-го розчину перекису водню. Колбу щільно закривають каучуковим корком зі скляною трубкою, яка приєднана до вимірювальної бюретки гумовим шлангом (рис. 7.2).

2. Початок досліду відмічають за секундоміром у той момент, коли стаканчик з перекисом падає і вміст колби струшують. Кисень, що виділяється, витісняє з бюретки воду, рівень якої відмічають через 0,5; 1; 1,5 та 2 хв. Активність каталази виражають в міліграмах О<sub>2</sub>, що виділився за 1 хвилину на 1 г ґрунту.

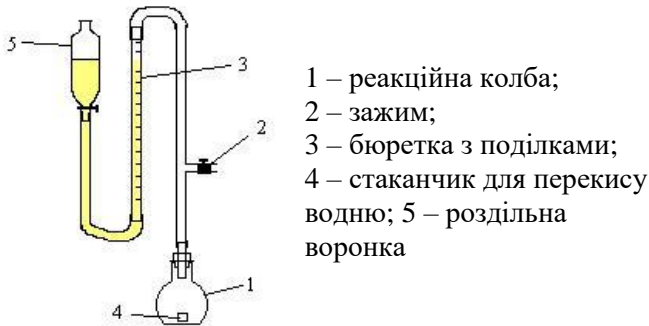


Рис. 7.2. Газометрична установка для визначення активності каталази

3. Визначення каталазної активності проводять у трикратній повторності для кожної проби ґрунту. За результатами трьох кратних вимірювань знаходять середньоарифметичне значення ( $M$ ) із вказанням середньоквадратичного відхилення ( $\pm m$ ).

4. В якості контролю слугує той самий тип ґрунту, що був відібраний на ділянці, яка не зазнає негативного впливу зовнішніх чинників.

5. Про екологічний стан досліджуваного ґрунту судять за оціночною шкалою, що наведена у табл. 7.1.

Визначені показники ферментативної активності ґрунту можуть також оцінюватись шляхом порівняння відповідних значень у варіантах досліду та контролю. Якщо величина відхилення становить  $> 50\%$  - ґрунт характеризується порушенням екологічної рівноваги.

Важливо, що в різних типах ґрунтів та в різні сезони року ферментативна активність змінюється. Тому для адекватної оцінки екологічного стану досліди проводять в одному часовому просторі та на однорідних типах ґрунтів.

**Обладнання, реактиви, матеріали:** лляна тканина, поліетилен, голка, нитка, лопата, пластиковий ніж (лопатка), ваги аналітичні, проби ґрунту, газометрична установка, секундомір, перекис водню (5%).

## **Робота № 8. Оцінка токсичності ґрунту за азотфіксуючою активністю бульбочкових бактерій**

### ***Основні поняття***

У процесі еволюції деякі мікроорганізми набули здатність до життя і розмноження не тільки в ґрунті, на поверхні коренів, але і в глибині їх тканин. До таких бактерій належать так звані бульбочкові бактерії.

Бульбочкові бактерії проникають до коренів рослин із ґрунту крізь кореневі волоски. На місці проникнення бактерій відбувається посилене ділення клітин кореня, завдяки чому формуються бульби. Форма і розмір бульб, а також їх розташування на коренях залежать як від активності бактерій, так і від виду рослин, на яких вони поселяються. Так, у гороху, конюшини і вики бульби утворюються у вигляді невеликих округлих здуть у місці розгалуження коренів і на кореневих мочках, а у люпину, квасолі, нуту та інших вони мають вигляд великих бородавчастих наростів товщиною в кілька сантиметрів (рис. 8.1).

Взаємовідносини бактерій і бобових рослин настільки тісні, а обидва організму в цьому симбіозі настільки залежать один від одного, що процес засвоєння азоту з атмосфери здійснюється як би одним складним організмом. Бактерії отримують від рослин вуглеводи, забезпечуючи рослину азотистими сполуками. Завдяки такій спільній діяльності бобових рослин і бульбочкових бактерій азот повітря стає доступним рослинам і накопичується в ґрунті.

За підрахунками академіка Д. М. Прянішнікова, конюшина при гарному врожаї накопичує за вегетаційний період близько 150 кг азоту, люцерна - 300 кг, люпин - близько 160 кг на 1 га. Однорічні бобові рослини (горох, вика, квасоля, соя) накопичують у ґрунті від 60 до 100 кг азоту на 1 га.

Бульбочкові бактерії - облігатні аероби, мають вигляд невеликих, злегка вигнутих, рухливих паличок із закругленими кінцями, спор не утворюють. У молодих культурах розмір їх коливається від 0,5x1 до 1x7 мк.

Поряд з паличкоподібними зустрічаються дуже дрібні рухливі комкоподібні форми - живчики, а також великі, сильно роздуті, колбоподібні, грушоподібні або видовжені гіллясті клітини, які називають бактероїдами. Вважають, що саме в цій бактерійній

формі бульбочкові бактерії найбільш енергійно засвоюють азот з атмосфери. Рух молодих бактерій здійснюється за допомогою джгутиків, розташованих у різних видів неоднаково. У одних бульбочкових бактерій є кілька джгутиків, які відходять з обох сторін клітини, у інших - один, який відходить від кінця клітини під прямим кутом.

Бульбочкові бактерії окремих видів рослин мають деяку різноманітність морфологічних форм. Так, бульбочкові бактерії конюшини більш товсті і короткі (до 2 мк), вкриті слизом; у гороху і вики довжина паличок сягає 3,5-4 мк, а великі бактерії люпину і кvasолі (3,5 мк) сильно зігнуті і вкриті слизом. Бактерії люцерни, конюшини і кvasолі мають в препаратах характерне зірчасте розташування клітин.

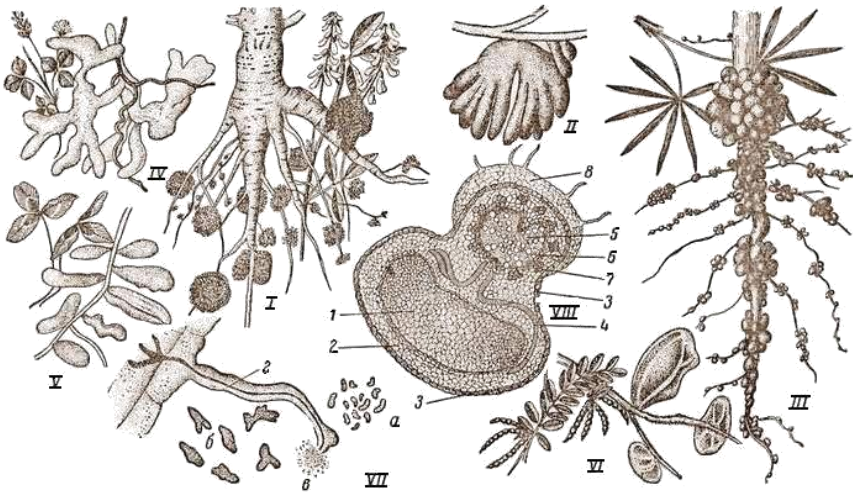


Рис. 8.1. Бульбочки на корнях бобових рослин:

I - корінь буркуну; II – багато лопатева бульбочка буркуну; III - корінь люпину; IV - бульбочки люцерни хмілеподібної; V – бульбочки конюшини; VI - бульбочки середели; VII - бульбочкові бактерії (а), бактероїди (б), проникнення бактерій в кореневий волосок (в), бактероїдний тяж (г); VIII - бульбочка люпину в розрізі: 1 - бактероїдна тканина; 2 - кора бульби; 3 - пробкова тканина; 4 - водоносні трахеїди; 5 - деревина кореня, 6 - камбій кореня; 7 - луб'яні волокна; 8 - відмираюча первинна кора



Булбочкові бактерії мають вибірково здатність вступати в симбіотичні взаємини з різними бобовими рослинами. Певний вид бактерій утворює бульби і активно фіксує азот тільки з певним видом або групою видів бобових рослин.

Булбочкові бактерії проявляють високу чутливість до забруднення середовища, що проявляється в зміні їх азотфіксуючої активності та загальної чисельності колоній. Ця особливість дозволяє використовувати булбочкові бактерії для індикації токсичності ґрунтів сільськогосподарських угідь та природних фітоценозів. Зокрема, за наявності в ґрунті надлишкових концентрацій свинцю, миш'яку, цинку, кадмію, стронцію, або появи нафтопродуктів та інших токсикантів порушується кислотний режим розчину в кореновому шарі, що призводить до зниження леггемоглобіну в азотфіксуючих булбочках та, відповідно, до зникнення їх забарвлення (рожевого чи червоного).

### ***Порядок проведення досліджень***

1. На досліджуваній території у період 2-3 тижнів після весняного відростання трав'янистих бобових рослин (конюшина, люцерна, еспарцет, буркун, козлятник, астрагал та ін.) збирають від 3 до 5 рослин певного виду, викопуючи їх разом із кореневою системою на глибину 15-20 см. Рослини слід відбирати за оптимальної вологості ґрунту (60-70%) та оптимальної температури для булбочкових бактерій (не нижче 10-15 °С).

2. Підраховують кількість кореневих булбочок у виборці певної ділянки, шляхом сумації їх кількостей на кожній вилученій з ґрунту рослині.

3. Всі булбочки акуратно надрізають скальпелем та візуально оцінюють наявність в них рожевого чи червоного забарвлення.

4. За відсотковим співвідношенням забарвлених булбочок до їх загальної кількості в виборці судять про ступінь токсичності ґрунту:

- у разі забарвлення більше 50% булбочок - задовільний;
- забарвлення 20-50% - екологічний ризик;
- забарвлення менше 20% - екологічна криза.

5. Результати зводять у вигляді таблиці 8.1.

Таблиця 8.1

Результати оцінки токсичності ґрунту за окрасом бульбочкових бактерій бобових трав'янистих рослин

№ ділянки	Вид і кількість вилучених рослин	Загальна кількість виявлених бульбочок	Середня кількість бульбочок на одній рослині	Кількість зафарбованих бульбочок	Зафарбованих бульбочок відносно їх загальної кількості у виборці, %	Ступінь токсичності ґрунту

6. Для виділення бульбочкових бактерій у чисту культуру здійснюють посів зі свіжої бульбочки на поживне середовище наступного складу: бобовий бульйон (100 г гороху на 1000 мл); сахароза (10 г); калій фосфорнокислий (1,0 г); агар (15,0 г).

7. Середовище розливають у пробірки (по 15-20 см<sup>3</sup>) та стерилізують у автоклаві за 1 атм. протягом 30 хв.

8. Для посіву обирають свіжий корінь бобової рослини з добре розвиненими бульбочками. Корінь промивають у воді та відрізають від нього найбільш крупні бульбочки. Для знищення поверхневої мікрофлори бульбочки занурюють на 5 хв. у розчин 0,1% сулеми, а потім промивають стерильною водою і спиртом. Залишки спирту з бульбочки видаляють фільтрувальним папером та обпалюванням.

9. Оброблені бульбочки переносять стерильним пінцетом у стерильну чашку Петрі або на предметне скло і розрізають на дрібні частини стерильним скальпелем. Бактеріологічною петлею беруть шматочок бульбочки або її вміст та вносять до пробірки з розплавленим та охолодженим до 35-40 °С поживним середовищем. Після ретельного перемішування матеріалу середовище переносять до стерильної чашки Петрі. Чашки з посівом розміщують у термостат із температурою 25 °С. Через кілька днів на поверхні поживного середовища відбудеться ріст бульбочкових бактерій у вигляді дрібних білуватих слизових колоній. Проводять порівняльний опис колоній бульбочкових бактерій, які висівали з рослин, відібраних на ґрунтах із різним ступенем забруднення.

10. Для розгляду бактерій під мікроскопом виготовляють мазки. Для цього розрізають бульбочку на дві частини. Місце зрізу проколюють кілька разів препарувальною голкою для руйнування

клітин бульбочки. Зі зруйнованої бульбочки відціджують краплину рідини на предметне скло, розбавляють її краплиною дистильованої води та виготовляють мазок. Після підсихання мазка його фіксують на полум'ї та зафарбовують фуксином або метиленовим синім. Підраховують середню кількість бактерій у полі зору на кожному препараті. Проводять порівняльний опис їх чисельності для рослин, відібраних на ґрунтах із різним ступенем забруднення.

11. На підставі отриманих даних роблять узагальнення щодо екологічного стану досліджуваного ґрунту.

**Обладнання, реактиви, матеріали:** мікроскоп, термостат, скальпель, чашки Петрі, бактеріологічна петля, пінцет, препарувальні голки, предметні скельця, мікроскоп, пробірки, сахароза, калій фосфорнокислий, агар, розчин сулеми (0,1%), спирт, фуксин або метиленовий синій, дистильована вода.

### **Питання для самостійного опрацювання та підготовки рефератів**

1. Фундаментальні поняття про ксенобіотики.
2. Метали та їх солі як отруйні речовини.
3. Перетворення токсичних речовин у навколишньому середовищі та за участю живих організмів.
4. Міжнародний проект по ліквідації СОЗ (International POPs Elimination Project (IPEP)).
5. Всесвітня мережа з усунення СОЗ.
6. Декларація IPEN.
7. Методи визначення ПХД в об'єктах навколишнього середовища.
8. Виявлення, інвентаризація та облік обладнання, продукції та відходів, що містять ПХД.
9. Проблеми правового регулювання поведінки зі СОЗ.
10. Стратегія державної екологічної політики України до 2030 р.
11. Державні стандарти відбору проб ґрунту.
12. Санітарно-гігієнічні нормативи екологічного стану ґрунту.
13. Спалювання відходів.
14. Екологічні наслідки.
15. Альтернативи сміттєспалюванню.

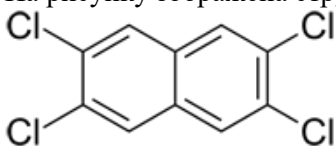
16. Вміст і розподіл CO<sub>2</sub> у компонентах екосистем морів та внутрішніх водойм.
17. Вміст і розподіл CO<sub>2</sub> у компонентах агроекосистем.
18. Міграція CO<sub>2</sub> по харчовим ланцюгам тварин і людини.
19. Транскордонне перенесення CO<sub>2</sub>.
20. Підбір систем удобрення для ремедіації забруднених CO<sub>2</sub> різних типів ґрунтів.
21. Екологічно-безпечне видалення речовин, що містять CO<sub>2</sub>.
22. Технологічні схеми процесів утилізації CO<sub>2</sub>.
23. Участь громадських організацій в рішенні проблеми CO<sub>2</sub>.
24. Доступ до даних про CO<sub>2</sub>.
25. Нормативно-правові аспекти задоволення громадських ініціатив щодо CO<sub>2</sub>.

### **Приклади тестових завдань**

1. Стокгольмська конвенція про стійкі органічні забруднювачі від імені України була підписана:
  - а) 23 травня 2001 року
  - б) 22 червня 2010 року
  - в) 20 липня 2012 року
  - г) 25 жовтня 2003 року
  - д) 21 січня 2021 року
2. Стокгольмську Конвенцію було ратифіковано і вона стала частиною законодавства України в:
  - а) 2005 році
  - б) 2007 році
  - в) 2004 році
  - г) 2003 році
  - д) 2000 році
3. Всі основні питання поводження з пестицидами, в тому числі непридатними і забороненими до використання врегульовано в Законі України:
  - а) «Про охорону навколишнього природного середовища»
  - б) «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення»
  - в) «Про пестициди та агрохімікати»
  - г) «Про зовнішньо-економічну діяльність»

- д) «Про стимулювання розвитку сільського господарства»
4. Пригнічують горіння в органічних матеріалах і тому використовуються як додаткові антипірени:
- а) поліхлоровані нафталіни  
б) пентахлорфенол та його солі і складні ефіри  
в) гексабромциклододекан  
г) похідні полібромодифенілового ефіру  
д) гексахлорбутадієн
5. Заборонені до виробництва, проте ненавмисно утворюються під час високотемпературних промислових процесів у присутності хлору:

- а) похідні полібромодифенілового ефіру  
б) гексабромциклододекан  
в) ліндан  
г) гексахлорбутадієн  
д) поліхлоровані нафталіни
6. На рисунку зображена структурна формула:



- а) поліхлорованих нафталінів  
б) пентахлорфенолу  
в) пентахлорбензолу  
г) хлорованих парафінів з короткими ланцюгами  
д) технічний ендосульфат
7. Використовувався як гербіцид, інсектицид, фунгіцид, альгецид, дезінфікуючий засіб, як інгредієнт фарби проти забруднення, обробник насіння сільськогосподарської продукції, шкіри, консервант деревини, реагент на мотузковій та паперовій фабриках:
- а) поліхлоровані нафталіни  
б) пентахлорфенол  
в) похідні полібромодифенілового ефіру  
г) гексабромциклододекан  
д) гексахлорбутадієн
8. Пентахлорбензол у міжнародній номенклатурі має позначення:
- а) РСР

- б) PCNs
- в) PeCB
- г) HBCDD
- д) HCBD

**9.** Солі та сполуки цієї речовини широко використовуються у виробництві фтороеластомерів та фторполімерів для виробництва антипригарного кухонного посуду, обладнання для переробки харчових продуктів. Пов'язані з нею сполуки використовуються як поверхнево-активні речовини та засоби для обробки поверхонь у текстилі, папері та фарбах, протипожежних пінах, їх виявлено у промислових відходах, килимостійких килимах, рідинах для чищення килимів, домашньому пилі, мішках для попкорну в мікрохвильовій печі, воді, продуктах харчування та тефлоні:

- а) поліхлоровані нафталіни
- б) похідні полібромодифенілового ефіру
- в) гексабромциклододекан
- г) перфтороктанова кислота
- д) хлордекон

**10.** Здатність живих організмів витримувати максимальні концентрації токсичних речовин прийнято називати:

- а) чутливість
- б) толерантність
- в) інфантильність
- г) адаптивність
- д) резистентність

**11.** Мінімальну кількість речовини або груп речовин, які починають негативно впливати на організм та достовірно змінюють середні біологічні показники і нормальну широту біологічного реагування чутливих форм корисних видів у водоймі, - називають:

- а) критерієм токсичності
- б) токсичною дозою
- в) пороговою концентрацією
- г) шкідливою дозою
- д) середньотоксичною концентрацією

**12.** Найінтенсивнішого техногенного навантаження зазнає ґрунтовий покрив глибиною до:

- а) 0,5 м
- б) 0,8 м
- в) 0,3 м
- г) 0,1 м
- д) 1,2 м

**13.** Нормативно встановлена маса окремої небезпечної речовини або категорії небезпечних речовин чи сумарна маса небезпечних речовин різних категорій має назву:

- а) граничний обсяг небезпечних речовин
- б) межа дії небезпечних речовин
- в) порогова маса небезпечних речовин
- г) допустимий об'єм небезпечних речовин
- д) шкідлива доза небезпечних речовин

**14.** Хлорорганічні пестициди проявляють мутагенний, тератогенний, ембріотоксичний, гонадотоксичний та канцерогенний ефекти:

- а) так
- б) ні

**15.** Хлорорганічні пестициди надзвичайно стійкі в:

- а) лужному середовищі
- б) слабокислому середовищі
- в) слаболужному середовищі
- г) нейтральному середовищі
- д) кислому середовищі

**16.** У поділі за стійкістю в об'єктах зовнішнього середовища пестициди вважаються помірно стійкими, якщо тривалість їх розкладу на нетоксичні компоненти становить:

- а) 1-6 місяців
- б) 1 місяць
- в) 0,5-2 роки
- г) більш як 2 роки
- д) 10 років

**17.** Токсична доза ДДТ для живих організмів, визначена ВООЗ складає:

- а) 1–5 мг/кг
- б) 10–15 мг/кг
- в) 15–20 мг/кг

- г) 0,1–1,5 мг/кг  
 д) більше 100 мг/кг
- 18.** Зі зміною проникності фосфоліпідних мембран клітин живих організмів для іонів  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  пов'язана токсична дія:
- а) пентахлорфенолу  
 б) поліхлорованих нафталінів  
 в) гексахлорциклогексану  
 г) похідних полібромодифенілового ефіру  
 д) гексабромциклододекану
- 19.** Спосіб очищення забруднених  $\text{CO}_2$  ґрунтів, що полягає у знезараженні безпосередньо на місці його перебування здійснюється за технологією:
- а) in-site  
 б) off-site  
 в) to-site  
 г) on-site  
 д) for-site
- 20.** Екобезпечним та економічно вигідним методом відновлення забруднених пестицидами ґрунтів вважається:
- а) хімічна ремедіація  
 б) вапнування  
 в) вплив ультразвуку  
 г) фотокаталіз  
 д) фіторемедіація

### Відповіді до тестових завдань

№ запитання	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
відповідь	а	б	в	г	д	а	б	в	г	д
№ запитання	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
відповідь	а	б	в	а	д	а	б	в	г	д



## Рекомендована література

1. Бровко І. С. Функціонування мікробіоти ґрунту за дії гербіцидів. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.16 екологія. Інститут агроекології і природокористування НААН України, Київ, 2017. 20 с.
2. Державні санітарні правила та норми (ДСанПіН) 8.8.1.2.3.4.-000-2001 «Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, ґрунті, URL: <http://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0137588-01> (дата звернення 05.01.2021).
3. Євтушенко М. Д., Марютін Ф. М., Туренко В. П. Фітофармакологія. К. : Вища освіта, 2004. 432 с.
4. Жеребко В. М. Фунгіциди, препарати для протруювання насіння. К. : Видав. центр НУБіП України, 2010. 60 с.
5. Закон України «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення». URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/4004-12#Text> (дата звернення 16.01.2021).
6. Закон України «Про об'єкти підвищеної небезпеки» від 18.01.2001 р. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2245-14#Text> (дата звернення 16.01.2021).
7. Закон України «Про пестициди та агрохімікати». URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/86/95-%D0%B2%D1%80#Text> (дата звернення 16.01.2021).
8. Закон України «Про ратифікацію Стокгольмської конвенції про стійкі органічні забруднювачі». *Відомості Верховної Ради України (ВВР)*, 2007, N 30, ст. 396 URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/949-16#Text> (дата звернення 05.01.2021).
9. Інформаційно-пошукова правова система «Нормативні акти України (НАУ)». URL: <http://www.nau.ua> (дата звернення 05.01.2021).

10. Клюев Е. С. Полихлорированные бифенилы. *Супертоксианты XXI века*. 2000. Информ. вып. № 5. С. 31–63.
11. Національний план використання Стокгольмської конвенції про стійкі органічні забруднювачі. Київ, 2006. 279 с.
12. Національний план виконання стокгольмської конвенції про стійкі органічні забруднювачі Київ, 2011. URL: <http://govuadocs.com.ua/docs/index-19099998.html> (дата звернення 09.01.2021).
13. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. К. : Юнівест медіа, 2012. 447 с.
14. Пестициди: зменшення ризиків. Інформаційні матеріали БЕЛ. URL: <http://www.ecoleague.net/diialnist/kampanii-na-zakhyst-dovkillia/pestytydy-zmshennia-ryzykiv/informatsiini-materialy> (дата звернення 05.01.2021).
15. Петриченко В. Ф. Сільськогосподарська мікробіологія і збалансований розвиток агроєкосистем. *Вісник аграрної науки*. 2012. № 8. С. 5–11.
16. Проект № GF/2732-03-4668. «Забезпечення заходів із розроблення Національного плану щодо впровадження у Україні Стокгольмської конвенції про стійкі органічні забруднювачі». Україна. Національний план використання Стокгольмської конвенції про стійкі органічні забруднювачі. Київ, 2006. 279 с.
17. Проект ГЕФ/ЮНІДО «Екологічно ефективне поводження та остаточне знешкодження поліхлорованих дифенілів (ПХД) в Україні». URL: <https://pcbs-ukraine.org/pkhd-v-ukraini> (дата звернення 16.01.2021).
18. Протокол по стійким органічним забруднювачам до конвенції 1979 року до трансграничного забруднення повітря на великій відстані : Організація об'єднаних націй – 1998 р. [Електронний ресурс] The 1998 Aarhus Protocol on Persistent Organic Pollutants (POPs). URL: [http://rac.org.ua/fileadmin/user\\_upload/publications/IEL\\_Guide\\_fin\\_al\\_no\\_cover.pdf](http://rac.org.ua/fileadmin/user_upload/publications/IEL_Guide_fin_al_no_cover.pdf) (дата звернення 12.01.2021).
19. Секун М. П., Жеребко В. М., Лапа О. М., Ретьман С. В., Марютін Ф. М. Довідник із пестицидів. К. : Колообіг, 2007. 360 с.

20. Стокгольмська конвенція про стійкі органічні забруднювачі Ратифікація від 18.04.2007. URL: [https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995\\_a07](https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_a07) (дата звернення 05.01.2021).
21. Четвериков В. В., Коваль Ч. М., Россоха А. В., Бондар О. І. Інвентаризація поліхлорованих дифенілів в Україні : методичний посібник, Херсон, Олді-Плюс, 2018, 51 с.
22. Amelung W., Kögel-Knabner I. Dynamics, Chemistry, and Preservation of Organic Matter in Soils. *Treatise on Geochemistry*, 2014. Vol. 12. P.157–215.
23. Bailey et al. Sources and prevalence of pentachlorobenzene in the environment. *Chemosphere*, 2009. Vol. 75(5), P. 555–564.
24. Chen Y., Wang C., Wang Z. Residues and source identification of persistent organic pollutants in farmland soils irrigated by effluents from biological treatment plants. *Environment International*, 2005. Vol. 31, Issue: 6. P. 778–783.
25. Holoubek I., Dusek L., Sánka M., Hofman J., Cupr P., Jarkovský J., Zbiral J., Klánová J. Soil burdens of persistent organic pollutants – Their levels, fate and risk. Part I. Variation of concentration ranges according to different soil uses and locations. *Environmental Pollution*, 2009. Vol. 157, Issue: 12. P.3207–3217.
26. Krauss M., Wilcke W. Persistent organic pollutants in soil density fractions: distribution and sorption strength. *Chemosphere*, 2005. Vol. 59, Issue: 10. P. 1507–1515.
27. Li C., Yang L., Liu X., Yang Y., Qin L., Li D., Liu G. Bridging the relationship between energy benefit of waste incineration and risk of trace persistent organic pollutant emissions. *The Innovation*, 2020. Vol. 0. Issue: 0. P. 100075.
28. Li Z. Health risk characterization of maximum legal exposures for persistent organic pollutant (POP) pesticides in residential soil: An analysis. *Journal of Environmental Management*, 2017. Vol. 205, P.163–173.
29. M.A. Ashraf Persistent organic pollutants (POPs): a global issue, a global challenge *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 24 (5) (2017), pp. 4223–4227, 10.1007/s11356-015-5225-9
30. Nguyen V.-H., Smith S.M., Wantala K., Kajitvichyanukul P. Photocatalytic remediation of persistent organic pollutants (POPs):

- A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 2020. Vol. 13. Issue: 11. P. 8309–8337.
31. Ren X., Zeng G., Tang L., Wang, J., Wan J., Liu Y., Yu J., Yi H., Ye S., Deng R. Sorption, transport and biodegradation – An insight into bioavailability of persistent organic pollutants in soil. *Science of The Total Environment*, 2018. Vol. 610, P.1154–1163.
  32. Shrestha R. A., Pham T. D., Sillanpää M. Effect of ultrasound on removal of persistent organic pollutants (POPs) from different types of soils. *Journal of Hazardous Materials*, 2009. Vol. 170, Issue: 2. P. 871–875.
  33. Sittig S., Kasteel R., Groeneweg J., Hofmann D., Thiele B., Köppchen S., Vereecken H. Dynamics of transformation of the veterinary antibiotic sulfadiazine in two soils. *Chemosphere*, 2014. Vol. 95. P.470–477.
  34. Sun B., Li Q., Zheng M., Su G., Lin S., Wu M., Li C., Wang Q., Tao Y., Dai L., Qin Y., Meng B. Recent advances in the removal of persistent organic pollutants (POPs) using multifunctional materials: a review. *Environmental Pollution*, 2020. Vol. 265, Issue: Pt A. P. 114908.
  35. UNEP. POPs: Regulatory Actions and Guedelines Concerning Persistent Organic Pollutants. Geneva, 1998. 267 p.