

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

**Львівський національний університет ветеринарної медицини та
біотехнологій імені С. З. Гжицького**

Кафедра біотехнології та радіології

ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЯ

**Методичні вказівки для лабораторних робіт
здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої
освіти
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
ОП «Біотехнології та біоінженерія»**

Львів – 2024

Екобіотехнологія : методичні вказівки для лабораторних робіт здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія ОП «Біотехнології та біоінженерія» / уклад. О. З. Сварчевська, В. І. Буцяк. Львів : Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, 2024. 75°с.

Рецензент : Кропивка С. Й. – кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри екології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького.

Рекомендовано навчально-методичною радою факультету харчових технологій та біотехнології ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького.

Протокол № 8 від 24 жовтня 2024 р.

ЗМІСТ

Вступ.....	2
Лабораторна робота № 1. Правила роботи у лабораторії. Основні методи та принципи використання лабораторного посуду, допоміжного та основного обладнання.....	3
Лабораторна робота № 2. Визначення параметрів навколишнього середовища.....	13
Лабораторна робота № 3. Відбір проб води для хімічного та мікробіологічного аналізу.....	15
Лабораторна робота № 4. Визначення хімічних показників води...	20
Лабораторна робота № 5. Визначення вмісту феруму у воді методом фотометрії.....	26
Лабораторна робота № 6. Визначення хімічного споживання оксигену в стічних водах.....	28
Лабораторна робота № 7. Відбір проб ґрунту та мулу.....	34
Лабораторна робота № 8. Біологічний аналіз активного мулу.....	36
Лабораторна робота № 9. Призначення, технічні характеристики, будова і принцип роботи газорідинного хроматографа.....	40
Лабораторна робота № 10. Вимірювання параметрів і розрахунок хроматограм при роботі на газорідинному хроматографі.....	48
Лабораторна робота № 11. Визначення вмісту нітратів в овочевих культурах за допомогою йонселективних електродів.....	55
Лабораторна робота № 12. Молочнокисле бродіння та його використання в екобіотехнологіях.....	57
Лабораторна робота № 13. Біотестування залишкової токсичності рослин та аналіз компосту на загальну токсичність за допомогою насіння редису.....	60
Лабораторна робота № 14. Біотестування фітотоксичності речовин, що містяться у воді або ґрунті.....	64
Лабораторна робота № 15. Відбір проб повітря і аналіз забрудненості повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація).....	65
Використана література.....	74

Вступ

Навчальний курс “Екобіотехнологія” передбачає вивчення впливу забруднювачів на довкілля та застосування біотехнологічних підходів для корекції екологічної ситуації.

У методичному посібнику наведено робочий план лабораторних занять, які здобувачі вищої освіти повинні виконати впродовж викладання дисципліни. На початку лабораторного практикуму необхідно ознайомитися з технікою безпеки при роботі в лабораторії. Для допуску до виконання кожного лабораторного заняття перевіряються знання здобувачами методики та техніки виконання експерименту, оформлення так званої “заготовки” звіту. Після співбесіди і дозволу викладача приступити до роботи, здобувачі виконують експеримент. Характерною особливістю більшості дослідів являється проведення їх з малими кількостями речовин — грамами та їх частинами, в об’ємах 1–5 см³, що дозволяє суттєво економити реактиви і час. Операції з невеликими кількостями речовин вимагають акуратності, старання, дотримання чистоти, тобто формують у здобувачів навички, необхідні для роботи в хімічній лабораторії. На закінчення лабораторної роботи здобувачу залишиться обговорити явища, які спостерігають, записати відповідні рівняння реакцій, відповісти на контрольні запитання і написати узагальнений висновок по роботі.

Виконання лабораторних робіт сприяє глибшому вивченню курсу та отриманню практичних навичок роботи з біологічними об’єктами, лабораторним обладнанням, реактивами, приладами тощо; проведення біотехнологічних досліджень, хімічних та біохімічних експериментів за заданою інструкцією та відповідним завданням.

Лабораторна робота № 1

Правила роботи у лабораторії. Основні методи та принципи використання лабораторного посуду, допоміжного та основного обладнання

Мета роботи: освоєння методів безпечного поводження з хімічними реактивами, правил поведінки у лабораторії та застосування лабораторного посуду і обладнання.

Завдання: оволодіти правилами безпечного перебування у лабораторії та навчитися користуватися лабораторним посудом і основним обладнанням.

При нагріванні або проколюванні речовин, які можуть розбризкуватися, обов'язково слід користуватися захисними окулярами.

Зберігання і використання у приміщенні лабораторії хімічних сполук повинно відповідати відповідним вимогам:

- У лабораторії мають бути банки для відходів хімічних речовин, які не можна виливати у раковину чи викидати у загальний смітник. Такі банки слід щільно закривати кришками.
- У раковину не можна виливати концентровані розчини кислот і лугів, хромову суміш, етери, бензин, хлороформ, отруйні речовини, викидати металеву ртуть, металевий натрій тощо.
- Концентровані кислоти й луги перед тим, як вилити, потрібно попередньо розбавляти водою або, ще краще, нейтралізувати.
- Отруйні речовини необхідно теж нейтралізувати тим або іншим способом, оскільки їхні випари можуть отруїти повітря лабораторії.
- Органічні отруйні речовини досить зручно нейтралізувати хромовою сумішшю.
- Якщо нейтралізувати отруйні речовини немає можливості, то їх можна виливати у раковину лише під витяжкою.

Посуд з хімічними речовинами та їх розчини повинні мати відповідну етикетку або напис олівцем по склу.

Робота з вогнебезпечними і легкозаймистими речовинами

Легкозаймисті речовини повинні зберігатися в спеціальному для цього приміщенні.

Забороняється зберігати в лабораторному приміщенні легкозаймисті леткі горючі речовини (петролейний етер, сірчаний етер, ацетон, метиловий і етиловий спирти, бензол, толуол тощо) у кількості, яка перевищує добову потребу.

Загальна кількість горючих речовин у лабораторному приміщенні з одною витяжною шафою не повинна перевищувати 5 л. Ці речовини необхідно зберігати у спеціальних залізних скринях. На внутрішній стороні дверця скрині роблять чіткий надпис з вказівкою найменувань та загальнодопустимої норми зберігання горючих і легкозаймистих рідин у конкретному приміщенні.

Діетиловий етер необхідно зберігати ізольовано від інших речовин у холодному і темному приміщенні; зберігання його при світлі приводить до утворення вибухової речовини — перекису етилу.

Знаходження горючих речовин на робочому столі при відкритому вогні *категорично забороняється*.

Забороняється зберігати горючі рідини в тонкостінних колбах ємністю більше 200 мл. *Забороняється* тримати горючі речовини у витяжних шафах, де проводиться робота з відкритим вогнем або приладами, включення яких може викликати іскру. *Забороняється* зберігати легкозаймисті рідини разом з сильними окиснювачами (нітратна кислота, бром, перекис водню, перекис натрію, чотириокис калію, перекис магнію, ртутне срібло).

Всі роботи, пов'язані навіть з невеликим випаровуванням в атмосферу лабораторії сильнопахучих токсичних речовин (бензол, нітробензол, толуол, ксилол, хлороформ, діетиловий етер, різні спирти, етери органічних кислот, сірчаний вуглець), необхідно проводити тільки у витяжній шафі. З метою запобігання вибуху *забороняється* випаровувати діетиловий етер досуха. *Забороняється* нагрівання або перегонка легкозаймистих речовин, об'єм яких перевищує один літр.

При роботах з перегонки легкозаймистих рідин необхідно спочатку наповнити водою холодильник, а потім включити нагрівальний прилад із закритим нагрівачем. При збиранні відгінного апарату необхідно особливо ретельно підбирати корки для з'єднання відгінної колби з холодильником.

Для попередження викиду рідини з відгінної колби на плитку або в приймальник необхідно наповнювати колбу лише на 2/3 її об'єму і класти туди 2–3 тонких скляних капіляри, які сприяють нормальному режиму кипіння рідини у відгінній колбі.

Забороняється відкривати вже нагріту відгінну колбу з легкозаймистою рідиною і кидати туди скляні капіляри, пемзу тощо.

При очистці перегонкою великої кількості легкозаймистих рідин необхідно перегонну апаратуру ставити на великі підставки з піском.

Дерев'яні частини витяжних шаф, в яких проводиться робота з легкозаймистими речовинами, повинні бути пофарбовані вогнетривким лаком або покриті азбестовим картоном.

Категорично забороняється зливати горючі рідини в раковину. Їх зливають у спеціально пристосовану тару, звідки вони вивозяться для знешкодження.

Якщо випадково розіб'ється ємність із легкозаймистою речовиною, необхідно негайно виключити всі нагрівальні прилади, включити витяжну вентиляцію, засипати піском розливу рідину і зібрати її віником на дерев'яну лопаточку або фанерку. Застосовувати металічну лопаточку, якщо підлога керамічна, кам'яна або цементна, *категорично забороняється*, так як може утворитися іскра і відбутися вибух.

У приміщенні, де проводять роботу з етером, застосовувати переносні електричні лампи *категорично забороняється*.

Робота з кислотами і лугами

У випадку попадання на шкіру кислоти або лугу можуть виникати тяжкі опіки, а при попаданні в очі — втрата зору.

Концентровані нітратна, сульфатна і хлоридна кислоти повинні зберігатися в товстостінному скляному посуді. Посуд повинен бути захищений від випадкових ударів. *Забороняється* зберігання великої кількості нітратної та хлоридної кислот поза витяжною шафою та в тонкостінному посуді.

Розливання концентрованих кислот повинно проводитися тільки під тягою при максимально прикритих дверцятах витяжної шафи. Тримати склянку необхідно обережно за горловину і дно. Стікаючи по горловині краплі знімають шматочком азбесту, а потім витирають насухо це місце папером або ганчіркою. Необхідно також обережно поводитися з концентрованими розчинами лугів (їдкого натрію і калію, аміаком). Якщо вони будуть пролиті на підлогу, це місце необхідно засипати піском і після прибирання, злити слабим розчином оцтової кислоти.

Робота з плавиковою (фтористоводневою) кислотою потребує особливої обережності. Попадання її на шкіру, викликає сильний біль і важкозагоювані рани. Вдихання пари плавикової кислоти викликає запалення верхніх дихальних шляхів і псування зубів. При попаданні плавикової кислоти на шкіру — це місце необхідно промити водою і прикласти компрес із 5 % розчину соди (бікарбонату натрію).

Хромова суміш також викликає сильні опіки, а тому при митті посуду цією сумішшю необхідно остерігатися попадання її на шкіру, одягу і взуття.

При перенесенні кислот і лугів необхідно виконувати наступні правила:

а) одна людина може переносити не більше 5 кг кислоти або лугу. При цьому, посудина з цими рідинами, повинна знаходитися в плетеному кошику або ящику з міцними ручками (вільні місця між стінками кошика і бутля заповнюють соломкою або стружкою);

б) бутлі більшої місткості переносять два чоловіки також в кошику або ящику з міцними ручками і дном.

Необхідно пам'ятати, що питома вага сірчаної кислоти приблизно вдвічі більша, ніж води, і що бутель на 10 л важить приблизно 20 кг. А тому при транспортуванні більшої кількості концентрованої сульфатної кислоти необхідно приділяти увагу міцності кошика і ящиків, які використовують в якості тари.

У місцях зберігання нітратної кислоти не повинно бути соломи, стружок та інших легкозаймистих речовин. Необхідно пам'ятати, що нітратна кислота виділяє газ NO_2 , який є сильним окиснювачем органічних речовин.

Бутлі з концентрованими кислотами не можна закривати гумовими корками, а лише керамічними, скляними або пластмасовими. Посуд з концентрованими лугами закривають гумовими корками.

Розливати концентровані кислоти і луги необхідно дуже обережно. Очі працюючого повинні бути захищені окулярами, руки — гумовими рукавичками. Виконання робіт з кислотами і лугами без захисних окулярів *забороняється*.

При роботі з нітратною кислотою (питома вага 1,51–1,52), крім захисних окулярів і гумових рукавичок, необхідно одягати довгий фартух з прогумованої

тканини або поліетиленової плівки. Зберігати таку кислоту необхідно у скляній, щільно закритій посудині.

При розколюванні великих шматків лугів необхідно обгорнути їх тканиною або папером, одягнути захисні окуляри, рукавички, пов'язати голову захисною хустиною.

При насипанні великої кількості гранульованого лугу в невелику тару (з великої тари) необхідно стати біля витяжної шафи, аби пил не потрапляв до лабораторної кімнати, одягнути окуляри, а ніс зав'язати марлею в 3–4 шари. Руки після роботи необхідно добре вимити водою. Обличчя обтерти спочатку сухим тампоном вати, а потім умитися.

При розведенні сульфатної кислоти необхідно кислоту лити у воду, а не навпаки! Цю операцію проводять тільки в термотривкій посуді.

Застосування гумових і полімерних шлангів для переливання концентрованих кислот *забороняється*.

Забороняється набирати концентровані луги і кислоти піпеткою, ротом. Для цього необхідно використовувати гумову грушу або автоматичні піпетки. Застосовувати сульфатну кислоту у вакуум-ексикаторах, як водопоглинаючий засіб, *забороняється*.

Для зливу відходів концентрованих кислот і лугів у лабораторії повинні бути спеціальні керамічні або скляні товстостінні, термотривкі ємності з кришками (окремо для кислот і лугів).

Правила роботи зі скляним посудом

З метою запобігання травмування при розрізанні скляних трубок, збиранні та розбиранні приладів і деталей, виготовлених зі скла, необхідно дотримуватись відповідних правил безпеки. Скляні трубки невеликого діаметру ламають після підрізання їх напильником або спеціальним ножом для різки скла, попередньо захистивши руки рушником.

При вставленні скляних трубок у гумові корки або гумові трубки, надяганні гумових трубок на скляні трубки (при збиранні приладів) необхідно попередньо змочувати ззовні скляну трубку і внутрішні краї гумові трубки або отвір у корку водою, гліцерином, вазеліновою оливою. Гострі краї скляних трубок необхідно оплавляти.

Збирати скляні прилади або окремі їх частини необхідно обережно, застосовуючи, де це потрібно, еластичні з'єднувачі та прокладки. Особливо необхідно захищати прилади і скляні деталі в місцях їх кріплення на металевих кільцях штативів або утримувачах пружинними прокладками з азбесту, гуми, шкіри тощо.

При вставленні скляних трубок у просвердлений корок, останній не слід вpirати в долоню, а тримати за бокові сторони. Трубки тримати як можна ближче за кінчик, який вставляється в корок. При закриванні тонкостінного посуду корком необхідно тримати його за верхню частину горловини і як можна ближче до корка. Руки при цьому повинні бути захищені рушником. Нагрітий скляний посуд не можна закривати притертим корком.

Загальні правила виготовлення розчинів. Виготовляти розчини можна тільки після попередньо проведених відповідних розрахунків. Усі розрахунки виконують заздалегідь і тільки у спеціальному журналі.

При виготовленні розчинів потрібно дотримуватися чистоти. Весь посуд має бути завчасно ретельно вимитий і висушений. Готувати розчини потрібно з чистих реактивів і бідистильованої води.

Для прискорення розчинення твердих речовин їх потрібно спочатку подрібнити.

Для подрібнення речовин не рекомендують використовувати металеві шпателі, а також фарфорові ступки, оскільки вони самі можуть стати джерелом забруднення цих речовин.

Для виготовлення розчинів не рекомендують використовувати гарячу воду, тому що при цьому змінюється співвідношення між розчиненою речовиною й розчинником за рахунок його випаровування або, при використанні мірного посуду, об'єму.

Доливати розчинник до необхідної позначки мірного посуду потрібно при тій температурі, при якій він проградуваний, і лише після повного розчинення речовин.

Легкорозчинні речовини й рідини змішують із розчинником вручну, закривши посуд корком. Пухирці повітря досить ефективно розбивають частинки твердих речовин. Якщо розчинення йде повільно, то можна використовувати електромеханічні (електромагнітні) мішалки.

Використовуючи розчини кислот або лугів, наливайте їх тільки у скляний посуд.

Розчиняючи сильні кислоти, особливо сульфатну й нітратну, потрібно доливати кислоту у воду, а не навпаки!

Зважувати хімічні речовини треба лише у скляному або фарфоровому посуді чи на листку кальки, дотримуючись правил зважування.

Зважувати рідкі кислоти, а також леткі рідини можна лише у герметично закритому посуді. Краще відмірювати необхідну кількість рідини мірним посудом. Знаючи густину рідини (вимірюють денсиметром або ареометром), можна завжди розрахувати її масу. Для цього відміряють рідину при тій же температурі, при якій виміряна її густина. Розчиняють сухі луги, додаючи луг у воду невеликими порціями й обережно перемішуючи. Якщо залишити гранульований луг у невеликій кількості води на деякий час, то він злипнеться в одну суцільну масу.

Не можна зберігати розчин лугу у скляній банці з притертим корком.

Зберігати розчини у мірних циліндрах, колбах чи хімічних склянках не можна – їх використовують лише для виготовлення розчинів.

Розчини, які підлягають зберіганню, потрібно зразу ж перелити у товстостінний посуд, який надійно закривається, і надписати етикетку.

На етикетці має бути зазначено точна назва розчину (якщо це складний розчин) або формула розчиненої речовини і її концентрація, а також дата виготовлення і прізвище виготовлювача. Рецепт розчину під відповідною назвою потрібно записати у спеціальному журналі.

Банки з розчинами мають бути щільно закриті. Зберігати виготовлені розчини потрібно холодильнику.

Перед використанням потрібно переконатися, чи у розчині не з'явилося помутніння, осаду чи колоній мікроорганізмів. Використовувати такі розчини не можна.

Перед використанням розчини підігрівають до потрібної температури.

Щоб зберегти чистоту розчинів, потрібно корки, відкриваючи банки чи склянки, тримати у руці або класти на стіл зовнішньою поверхнею.

Закривати банки з розчинами потрібно одними і тими ж самими корками; для цього їх також зручно підписати, як і банки.

Набирати розчини потрібно чистою піпеткою або наливати у циліндр або хімічну склянку, попередньо сполоснувши їх цим розчином.

Для розчинів реактивів, які часто використовують, бажано мати підписану окрему піпетку, мірний циліндр тощо.

Найчастіше у дослідженнях для позначення концентрації певної речовини використовують мольно-об'ємну концентрацію або молярність. *Молярність* — це кількість молів розчиненої речовини в 1 л розчину. Позначають найчастіше *моль/л* (або *М*). На практиці у фізіологічних дослідженнях використовують мілімолярні концентрації (0,001 моль/л). Моль — це така кількість речовини, яка містить стільки частинок (атомів, молекул, йонів та ін.), скільки міститься атомів у карбоні масою 0,012 кг (12 г).

Масу одного моля речовини називають *молярною масою* і виражають її у грамах на моль (*г/моль*). Молярна маса речовини, виражена у грамах, має те саме числове значення, що і її відносна молекулярна (атомна) маса, виражена в а. о. м.

Види розчинів:

Молярний розчин — це розчин, в якому число грамів розчиненої речовини, що припадає на один літр розчину, збігається з його молекулярної масою, тобто розчин, молярність якого дорівнює 1 М.

Розчин нормальний — розчин, що містить в 1 л 1 г/екв. розчиненої речовини. Якщо в 1 л розчину міститься 0,05 грам-еквівалента розчиненої речовини, то розчин 0,05 н або 1/20 н і т.д.

Насичений розчин — розчин, в якому розчинена речовина за даних умов досягла максимальної концентрації і більше не розчиняється. Осад даної речовини знаходиться в рівноважному стані з речовиною в розчині.

При виготовленні насиченого розчину до розчинника додають звичайно таку кількість розчинюваної речовини, щоб частина її залишалася нерозчинною, скільки б розчин не розмішували і не збовтували. Однак у практиці звичайно користуються ненасиченими розчинами, тобто такими, в яких при даній температурі розчинювана речовина може ще розчинятися (до утворення насиченого розчину).

Буферні розчини — це суміші слабкої кислоти та її солі, утвореної сильною основою або слабкого лугу і його солі. Вони містять певну концентрацію йонів гідрогену H^+ , яка майже не залежить від розведення і мало змінюється при додаванні деякої кількості вільної кислоти чи лугу.

Підготовка посуду, приладів і лабораторного обладнання

Скляний посуд. За призначенням хімічний скляний посуд можна поділити на посуд загального, спеціального призначення та мірний посуд.

Посудом спеціального призначення вважають тільки той, який використовують лише з певною метою, наприклад, для визначення молекулярної маси речовини. Його розглядати не будемо.

Посуд загального призначення. *Пробірки* — вузькі циліндри з заокругленим дном. Можуть мати різну величину і діаметр та бути виготовлені з різного скла. Крім звичайних пробірок, є ще центрифужні, в т. ч. і градуйовані.

Для зберігання пробірок і роботи з ними використовують *штатив*, здебільшого пластмасовий. Використовують пробірки для аналітичних і мікрохімічних робіт, а також для інкубування невеликої кількості тканини.

Наповнювати пробірки потрібно на $1/8$ – $1/4$ об'єму, перемішувати струшуванням. Для струшування рідини *не можна пробірку закривати пальцем*, а слід використовувати гумовий або пластмасовий корок.

Мірний посуд. Мірний посуд використовують для вимірювання об'єму рідин.

Мірні циліндри — товстостінні циліндри з нанесеними на них поділками для позначення об'єму у мілілітрах. Вони можуть бути ємністю від 5–10 мл до 1 л і більше. Здебільшого встановлюють об'єм рідини за нижнім її меніском. Мірні циліндри (як і колби) можуть бути двох типів — калібровані на наливання або виливання.

Мензурки — те ж саме, що і мірні циліндри, але конічної форми (звуженою частиною донизу).

Піпетки використовують для точного вимірювання рідин. Звичайні піпетки — скляні трубки невеликого діаметра із звуженим нижнім кінцем і нанесеними поділками. *Не можна набирати ротом розчини кислот і лугів!*

Розрізняють піпетки *незливні* і *зливні*. У незливних піпетках цифрові позначення поділок починаються зверху, а поділки не захоплюють носик. У зливних — поділки досить часто починаються знизу, від носика.

Із зливних піпеток залишки рідини з носика не потрібно видувати — їхній об'єм не враховує ту кількість рідини, що залишається у носіку. Після зливання потрібно торкатися кінчиком піпетки стінок посудини, щоб рідина повністю витекла. Залишається лише невелика кількість у самому кінчику носика. Кінчиком піпетки можна доторкатися до стінки посудини (*але не занурювати його в розчині*) і під час зливання рідини; тоді вона не буде розбризкуватися.

На стінці колби обов'язково зазначено об'єм і температуру, при якій вона калібрована (найчастіше $20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Це означає, що об'єм розчину, налитого у колбу до мітки, відповідає зазначеному об'єму тільки при $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. При вищій температурі об'єм колби внаслідок термічного розширення скла стає трохи більшим від зазначеного. Ще більшого розширення внаслідок підвищення температури зазнає рідина. Тому вимірювати об'єм рідини потрібно лише при

тій температурі, при якій колба є калібрована. Правда, зміна температури у межах 3–4 °С мало впливає на зміну об'єму колби і тому при звичайних вимірюваннях цією похибкою нехтують.

Миття й сушіння скляного хімічного посуду. Хімічний посуд завжди має бути абсолютно чистий. Мити посуд потрібно зразу ж після досліду.

Очищувати посуд можна різними методами: фізичними, механічними, хімічними чи їхніми комбінаціями.

Фізичні й механічні методи очищення. Миття водою. Якщо скляний посуд незабруднений смолою, жирами чи іншими нерозчинними у воді речовинами, його можна мити теплою водою, використовуючи при цьому різні мийні засоби: звичайне мило, кальциновану соду або синтетичні мийні засоби. *Скляний посуд вважається чистим, якщо на його стінках не утворюються окремі краплі й вода залишає тоненьку плівку.*

Якщо на стінках є наліт будь-яких солей або осад, то змочений водою посуд чистять щіткою або йоржем, а потім домивають водою.

Працюючи йоржем, потрібно слідкувати, щоб нижній його кінець не вдарявся до дна або стінок, оскільки при цьому досить легко можна розбити посуд. Щоб запобігти цьому, на металевий кінець йоржа натягають шматок гумової трубки відповідного розміру.

Добре вимитий у теплій мильній воді посуд обов'язково потрібно два-три рази прополоскати проточною водою, а потім дистильованою для того, щоб відмити його від солей, які є у водопровідній воді.

Не можна використовувати для очищення скляного посуду пісок, наждачний папір чи сталевий дріт, оскільки вони дряпають його поверхню. Посуд, який має подряпану поверхню, при нагріванні зазвичай тріскає.

Крім зазначених способів, часто використовують спеціальні пристрої для миття посуду (зокрема, пробірок) парою, мийні машини, а також пристрої для механізованого очищення посуду щітками.

Миття органічними розчинниками. До органічних розчинників відносять діетиловий етер, ацетон, спирти, петролейний етер, бензин, скипидар, чотирихлористий карбон та інші речовини. Їх використовують для відмивання посуду від смоли речовин або інших органічних речовин, які не розчиняються у воді. Деколи для кращого відмивання використовують їхню пару, але робити це потрібно дуже обережно і з використанням спеціальних пристроїв, оскільки всі органічні розчинники є вогнебезпечні. Використані розчинники зливають у спеціальний посуд, а потім регенерують (за допомогою перегонки) або утилізують.

Застереження. Зберігати органічні розчинники під прямим сонячним світлом, біля нагрівних і електричних приладів, а також у тонкостінному скляному посуді заборонено. Не можна працювати з органічними розчинниками поблизу відкритого вогню та електроплит. Органічні розчинники категорично заборонено виливати у раковину.

Хімічні методи очищення. Хромово суміш. Досить часто у лабораторіях для очищення хімічного посуду використовують хромову суміш — суміш концентрованої сульфатної кислоти з водним розчином калію або натрію

дихромату (біхромату), оскільки ці речовини в кислому середовищі є сильними окиснювачами. Окиснення часто супроводжується зміною забарвлення суміші: дихромати мають оранжевий колір, а продукти їхнього відновлення — солі хрому (III) — зелений або зеленувато-фіолетовий.

Для приготування хромової суміші у концентровану сульфатну кислоту додають приблизно 5 % від її маси (9 г на 100 мл кислоти) подрібненого порошку кристалічного *калію дихромату* (*калію двохромовокислого*) і обережно нагрівають на водяній бані або електроплиті до повного його розчинення. Кислоту можна розігрівати також, додаючи обережно до неї невелику кількість води (приблизно 50 мл на 1 л кислоти).

Коли для виготовлення хромової суміші використовують *натрію дихромат*, то його розчиняють спочатку у воді, а потім у розчин обережно додають сульфатну кислоту. Суміш готують за пропорцією: вода — 100 мл, натрію дихромат — 6 г, сульфатна кислота (питома вага = 1,84) — 100 мл.

Хромова суміш служить досить довго. Після тривалого використання її колір із темно-оранжевого переходить у темно-зелений, що сигналізує про її непридатність для миття.

Застереження. Хромова суміш досить сильно діє на шкіру й одяг, тому працювати з нею треба обережно.

- Крім повсякденного халата, потрібно використовувати прогумовані фартухи, а також гумові рукавички.
- Якщо ж хромова суміш все-таки потрапляє на шкіру рук або одяг, їх потрібно насамперед обмити великою кількістю води, а потім розчином соди (натрію двовуглекислого) або аміаку.
- При митті піпеток у них не можна набирати хромову суміш ротом, а лише грушею (з отвором).
- Усі солі хромових кислот отруйні!

Зручною у використанні є суміш Комаровського — *суміш 6 н розчину хлоридної кислоти і 5–6 % розчину пероксиду водню*. Ця суміш діє досить енергійно навіть при невеликому підігріванні і не псує скло, що не можна сказати про хромову суміш і перманганат калію. Її можна використовувати кількаразово.

Коли немає хромової суміші, можна використовувати концентровану сульфатну кислоту або концентровані (до 40 %) луги. Смоли розчиняються або в кислоті, або у лузі. Після використання лужних мийних засобів, а особливо концентрованих лугів, посуд потрібно добре сполоскати гарячою водою, а ще краще — розбавленою хлоридною кислотою, оскільки луги добре адсорбуються поверхнею скла і погано відмиваються холодною водою.

Застереження. Зливати в один посуд кислоту і луг заборонено!

Очищення посуду для особливо точних робіт. Скло і кварц, з яких виготовляють лабораторний посуд, мають здатність адсорбувати багато йонів. Зокрема, після миття хромовою сумішшю на стінках посуду залишаються йони хромової кислоти, а також катіони таких важких металів, як Pb, Cu, Zn, Cd, наявність яких може суттєво позначитися на результатах аналітичних досліджень. Особливо це стосується робіт, коли визначають концентрацію Ca^{2+} .

Тому такий посуд після полоскання дистильованою водою ополіскують 5 % розчином ЕДТА (етилендіамінтетраацетату) для зв'язування солей важких металів і Ca^{2+} або сильно розбавленим розчином щавлевої кислоти (0,01 н) для знешкодження хромат-йонів. Після цього посуд ще раз добре ополіскують водою, бажано бідистильованою.

Сушіння хімічного посуду. Посуд має бути добре висушений.

Методи холодного сушіння (без нагрівання). Посуд можна сушити на кілках, які розміщують над раковиною (щоб стікала вода). Залишають посуд на кілках до тих пір, поки він не висохне. Але їх потрібно спеціально обробити, щоб не забруднити посуд. З цієї ж причини їх потрібно завжди витирати (мокрі швидше заповнюються), а також рекомендується обгортати їх фільтрувальним папером. Найкращими є кілки, виготовлені з пластмаси. Зручно також використовувати для сушіння посуду спеціальні решітки.

Недоліком сушіння на кілках є все-таки висока ймовірність забруднення посуду. Тому краще його сушити на столі покритому лінолеумом і застеленому фільтрувальним папером. Сушити так зручно посуд із широкими горловинами, оскільки його можна перевернути. Поставити догори дном мірні колби неможливо, тому їх обов'язково накривають листком фільтрувального паперу або використовують спеціальні штативи з відповідними решітками.

Можна використовувати для сушіння етиловий спирт і діетиловий етер, якими послідовно ополіскують посуд. Залишки етеру швидко вивітрюються і посуд залишається чистим.

Застереження. Виливати спирт і етер у раковину не можна. Їх зливають в окремий посуд для регенерування.

Якщо посуд має бути дуже чистим і не забруднюватися речовинами, що є у повітрі, його можна сушити в ексікаторах, найкраще — у вакуумних, наповнених силікагелем, який адсорбує воду.

Методи сушіння нагріванням. Для прискорення сушіння посуд можна обдувати гарячим повітрям. Деколи його сушать над електроплиткою або «холодним» полум'ям газового пальника. Правда, останній спосіб у сучасних фізіологічних дослідженнях практично не використовують, оскільки посуд забруднюється продуктами горіння.

Нагрівати потрібно обережно, оскільки у випадку нерівномірного нагрівання посуд може тріснути через місцеве охолодження краплями води, які є на його стінках. Посуд слід увесь час повертати і після висушування витерти кіптяву. Мірний посуд (піпетки, колби) не можна нагрівати на полум'ї.

Сушильна шафа. Найкраще сушити посуд у сушильній шафі. Сушити потрібно при температурі 80–120 °С. Поличку шафи потрібно застелити фільтрувальним папером. Посуд не можна ставити догори дном, оскільки це сповільнює випаровування води. Після вимкнення сушильної шафи йому потрібно дати вистигнути у ній.

Застереження. Сушильна шафа має бути обов'язково заземленою. Не залишайте сушильну шафу без нагляду!

Після сушіння посуд потрібно покласти у відповідні ящики або шафи тощо. Мірні колби закрити корками або ватними тампонами, мірні піпетки на

спеціальних підставках накрити фільтрувальним папером або поліетиленовим мішечком.

Лабораторна робота № 2

Визначення параметрів навколишнього середовища

Мета роботи: ознайомити здобувачів із класифікацією абіотичних факторів; провести в умовах біогеоценозу демонстрації щодо вимірювання фізичних (температура, вологість, освітленість, фонові радіоактивність, забруднення пилом) параметрів навколишнього середовища.

Завдання: оволодіти методами оцінки параметрів навколишнього середовища.

В екобіотехнології під навколишнім середовищем розуміють сукупність усіх умов (факторів), в яких існують живі організми.

Фактори поділяються на три групи:

- фактори неживої природи (абіотичні);
- фактори живої природи (біотичні);
- антропогенні фактори (зумовлені людською діяльністю).

Існують декілька класифікацій абіотичних факторів. Загальноприйнята — за їх причетності до певних елементів екосистем: кліматичні, едафічні (або ґрунтові), гідрологічні та орографічні.

Кліматичні фактори — сукупність метеорологічних явищ, таких як температура, вологість, газовий склад і атмосферний тиск повітря, освітленість, сонячне випромінювання, опади та ін.

Едафічні та гідрологічні — фізико-хімічні особливості ґрунту та води відповідно.

Орографічні — комплекс факторів середовища, що зумовлені рельєфом місцевості (зокрема висота над рівнем моря, експозиція та крутизна схилу тощо).

Нормальна життєдіяльність організмів можлива лише за умови життєвого оптимуму екологічного фактора конкретного виду. Існує така інтенсивність впливу фактора, за якої життєдіяльність організму (конкретного виду) не можлива. Такі фактори, що обмежують розвиток і можливість нормального існування організму або популяції, називаються лімітуючими або обмежуючими.

Основними абіотичними факторами, які здатні обмежувати життя, є температура, вологість, освітленість, радіоактивність.

Хід роботи: 1. Ознайомитись з принципами роботи приладів для вимірювання фізичних параметрів навколишнього середовища.

2. Визначити фізичні параметри середовища (температуру, вологість, освітленість) в умовах вулиці та приміщення.

3. Зробити вимірювання потужності експозиційної дози гамма-випромінювання.

4. Результати досліджень занести в таблицю 1.

5. На основі отриманих результатів зробити висновок.

Показники фізичних параметрів навколишнього середовища

№ п/п	Температура, °С			Відносна вологість повітря, %	Освітленість, лк	Потужність експозиційної дози гамма-випромінювання, мР/год.
	повітря	грунту	води			

Забрудненість пилом. В умовах міст та інших обжитих територій одним з потужних забруднювачів повітря є пил, що переноситься на більші відстані під час розпилення ґрунтів, при викидах від цементних, керамічних заводів, підприємство з виробництва силікатної цегли, а також від автотранспорту, що рухається. В останньому випадку це дрібні часточки ґрунту й різних солей, продукти зношування шин і роздрібнення асфальтового покриття. Всі ці частки, що становлять пил, осідають на листах, вдихаються людиною, викликаючи порушення роботи дихальних шляхів, силікози, провокуючи кашель і слезотечу.

Найбільша затримка пилу листами відзначено в різних видів тополь, які поширені в озеленувальних посадках міст України. Тополі взагалі є найбільш стійкими з деревних порід до різних типів повітряних забруднень.

Завдання і рекомендації до виконання роботи:

1. Листи одного виду тополі, найпоширенішого в місті (осокір, бальзамічний та ін.), відбирають заздалегідь (на відзначених на карті місцях) з висоти 1,5–3 м (висота шаруючи повітря, вдихуваного людиною) в 10–15-кратній повторності. Для цього використовується садовий секатор на збірній штанзі.
2. Одночасно відбирають листи тополь, що виростають у чистій зоні (контроль).
3. Листи поміщають у пакети з кальки й обережно доставляють у лабораторію, уникаючи струшування пилу.
4. У лабораторних умовах визначають кількості пилу: на вагах зважують шматочок вологої вати, загорнений у кальку (до 0,001 г). Лист тополі ретельно обтирають цією ваткою із двох сторін (розгортати кальку треба за допомогою пінцета), після чого ватку зважують у кальці повторно.
5. Масу пилу (P) розраховують як різницю між другим і першим зважуванням.

Площу аркуша розраховують шляхом обмірювання листових пластинок уздовж (a) і поперек (b) і множенням на переказний коефіцієнт (k):

$$S = a \cdot b \cdot k$$

Коефіцієнт (k) коливається для різних видів тополь від 0,60 до 0,66. Кінцевий результат виглядає так:

$$m = P / S, \text{ мг/см}^2,$$

де m - маса пилу на 1 см² листа.

6. Фільтрувальний папір змочують водою до стікання. На неї поміщають аркуш своєю верхньою, а потім поруч – нижньою стороною прикривають аркушем кальки або плівкою. На фільтрі одержуємо відбиток, що оцінюють візуально за ступенем забруднення (суцільне – 100%, наполовину – 50% і т.д.). Для цих же цілей можна використати липку плівку "скотч", що накладають на аркуш рослини, знімають і приклеюють до білого аркуша паперу.

7. Пил змивають із 30–50 листів пензликом у попередня зважену випарну чашку, воду упарюють, чашку з пилом висушують у сушильній шафі при температурі +105°C до постійної маси, а потім зважують. Кількість пилу розраховують у мг на см аркуша.

8. Результат записують у таблицю 2.

Таблиця 2

Результати вимірювань кількості пилу

контроль		дослід		% від контролю
Площа листа	кількість пилу, мг/см	Площа листа	кількість пилу, мг/см	

Лабораторна робота № 3

Відбір проб води для хімічного та мікробіологічного аналізу

Мета роботи: оволодіти основними вимогами відбору проб води для хімічного та мікробіологічного аналізу.

Завдання: провести відбір проб води для хімічного та мікробіологічного аналізу.

Якість води, яка використовується для побутових і технічних цілей визначається відповідними фізичними і хімічними показниками, які показують наявність або відсутність тих чи інших домішок у воді. Головні хімічні характеристики — твердість, окиснюваність, вміст хлорид-йону, Карбон (IV) оксиду і розчиненого кисню. Важливою фізичною характеристикою є вміст завислих речовин у воді.

Розрізняють твердість тимчасову (карбонатну), яка обумовлена присутністю гідрокарбонатних солей кальцію і магнію та постійну, яка характеризується наявністю сульфатів, хлоридів і нітратів кальцію та магнію. Сума тимчасової і постійної твердості дають загальну твердість, в такій воді присутні всі солі кальцію і магнію. Враховуючи те, що кальцій та магній мають різні атомні маси і їх співвідношення у природних водах не є постійним, твердість води виражають в ммоль-екв/л. Інколи твердість води виражають також у німецьких (10 мг CaO в 1 $дм^3$ води), англійських (1 г $CaCO_3$ в 1 галоні) або французьких (1 г $CaCO_3$ в 100000 г води) градусах.

Під окиснюваністю води розуміють масу кисню в міліграмах, яка йде на окиснення органічних речовин, розчинених в 1 $дм^3$ води при певних умовах окиснення. Отже, окиснюваність — один із показників ступеня

забруднення води органічними домішками.

Хлориди в природних водах займають перше місце серед аніонів. Вміст їх коливається від десятих до тисячі і більше міліграм в 1 дм³. У побутових стічних водах особливо багато хлоридів. Різке збільшення концентрації хлоридів у воді вказує на забруднення водойми стічними водами. При концентрації хлоридів більше 300 мг/дм³ вода набуває солонуватого присмаку. Крім того хлориди посилюють корозію заліза у воді, внаслідок утворення добре розчинного FeCl₂. Хлориди часто містяться у стічних водах хімічних підприємств.

Карбон (IV) оксид, H₂S, сульфур (IV) оксид і кисень — найбільш часто присутні у воді шкідливі корозійноздатні гази. Тому воду аналізують на їх вміст. Карбон (IV) оксид завжди присутній у воді. Визначення розчиненого кисню у воді — важлива складова частина хімічного аналізу води. Недостатній вміст його або повна відсутність вказує на наявність забруднень, які поглинають із води розчинений в ній кисень. Розчинність газів у воді залежить від температури і атмосферного тиску. Визначення слід робити зразу ж після відбору проби води. Джерелом кисню у воді є атмосферне повітря і фітопланктон. Глибокі ґрунтові води, як правило, не містять розчиненого кисню, вони поглинають його при зіткненні з повітрям.

Більшість промислових стічних вод містять значну кількість завислих у воді твердих частинок і колоїдів різного хімічного складу, обумовленого специфікою виробництва. Вода, призначена для господарсько-побутових потреб, для охолодження агрегатів, паросилового господарства та інших цілей, часто містить частинки глини, піску, мулу, які потрібно видалити. Процес видалення із води завислих частинок і колоїдів називається освітленням та обезбарвленням. Найбільш ефективно цей процес відбувається з застосуванням спеціальних реагентів — коагулянтів і флокулянтів. У якості коагулянту найчастіше застосовують алюмінію гідросульфат, який у воді при рН=7 максимально гідролізує, утворюючи нерозчинний гідроксид алюмінію. Пластівці гідроксиду алюмінію адсорбують завислі у воді частинки, утворюючи при цьому крупні флокули, які швидко осідають і розчин освітлюється. Як флокулянти використовують високомолекулярні сполуки, що можуть застосовуватися для очистки води самотійно чи разом з коагулянтами. Перед проведенням освітлення воду перевіряють на вміст завислих частинок з допомогою тих же реагентів. У водах багатьох природних джерел містяться нафтопродукти. Найчастіше вони попадають у воду в результаті недостатньої очистки стоків промислових підприємств. Але забруднення нафтопродуктами може бути іншого характеру: винос ґрунтовими водами із нафтоносних шарів, міські зливні стоки, скид з пароплава, моторних човнів та ін. Тому у воді річок та озер визначають вміст нафтопродуктів.

Відбір проб води для хімічного аналізу

1. При відборі проби води для хімічного аналізу слід використовувати пластикову або скляну тару об'ємом 2 літри (для розширеного аналізу води — 5 л.) З-під простої питної або дистильованої води. Не слід використовувати

пляшки з-під солодких ароматизованих напоїв. Для забору водопровідної води необхідно попередньо спустити воду при повному відкритті крана протягом 10–15 хвилин. Це необхідно робити для того, щоб уникнути попадання в зразок застоюної води.

2. У випадку, якщо відбір води проводиться з щойно пробуреної свердловини, свердловину потрібно інтенсивно прокачати, або поексплуатувати протягом декількох тижнів. При бурінні свердловин можуть використовуватися бурові розчини, залишки яких потрапляють у воду і можуть істотно змінити її склад, особливо в перші дні роботи свердловини.

3. Якщо у вас встановлено будь-яких фільтри, то воду слід відбирати без очищення, минаючи наявні фільтри, наприклад з поливального крана на вулиці.

4. Відбір проб води на проточних водоймах проводиться 1 км вище найближчого за течією пункту водокористування (водозабір для питного водопостачання, місця купання, організованого відпочинку, територія населеного пункту), а на непроточних водоймах і водосховищах — в 1 км в обидва боки від пункту від пункту водокористування.

5. Зазвичай проби у створі відбирають у трьох точках (в обох берегів і в фарватерах); при обмежених технічних можливостях або на невеликих водоймах допускається відбір проб в одній – двох точках (в місцях найбільш сильної течії). Найчастіше проби відбирають в 5-10 м від берега на глибині 50 см.

6. Пляшки і кришки попередньо обполіскують не менше трьох разів водою, яка підлягає аналізу.

7. Воду необхідно наливати акуратно по стінці пляшки, щоб бульбашок повітря у воді було якомога менше. Такий спосіб відбору дозволяє зменшити насичення води киснем, що запобігає протіканню хімічних реакцій.

8. Під час відбору проби уважно стежте за тим, щоб горлечко пляшки не торкалося до крана або раковини.

9. Налийте воду доверху, після чого стисніть ємність з боків так, щоб вода трохи вилілася з пляшки. У такому стані щільно закрутіть пляшку кришкою. Така маніпуляція дозволить уникнути попадання повітря під кришку.

10. Аналіз води бажано проводити в день відбору проб. Якщо час, необхідний для доставки проби води перевищує 2 годин, то повинні бути вжиті заходи проти нагрівання або замерзання проби. Якщо це неможливо, то проби води рекомендується зберігати в холодильнику не більше 48 годин.

Найпоширеніші способи консервування проб води вказано у таблиці 3.

Таблиця 3

Способи консервування проб води

Визначувані компоненти, властивості	Консерванти, строки визначення після відбирання проб
Температура рН, Eh, CO ₂ , HCO ₃	Не консервують, вимірюють відразу Не консервують: а) визначення виконують відразу на місці; б) посудину заповнюють водою доверху і закривають так, щоб не залишилося бульбашок повітря; аналізують не пізніше ніж через 1 добу

Розчинений кисисген	Не консервують, фіксують додаванням необхідних реагентів (див. методику РД 52.24.73-88)
Смак, запах, кольоровість	Не консервують. Визначають не пізніше, ніж через 2–3 години
Каламутність, прозорість, завислі речовини; питома електропровідність	а) не консервують, визначають не пізніше ніж через 1 добу; б) додають 1–2 см ³ хлороформу до 1 дм ³ води
Органічні сполуки	Не консервують. Визначають якомога швидше після відбирання проби
Біохімічне споживання кисисгену (БСО)	Не консервують. Пробу можна зберігати не більш ніж 1 добу за 3 – 4 °С
Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , F ⁻	Не консервують. Бажано зберігати не більше ніж 3 доби
Хімічне споживання кисисгену (ХСО), NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , Zn ²⁺	1 см ³ концентрованої сульфатної кисисоти на 1 дм ³ води
Mn ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ , Cr(III), Cr(VI)	12 см ³ концентрованої нітратної кисисоти на 1 дм ³ води
Кольоровість, NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , АСПАР	2–4 см ³ хлороформу на 1 дм ³ води
Ферум	Загальний вміст феруму: додають 20 см ³ концентрованої нітратної кисисоти до 1 дм ³ проби води Ферум(III) та ферум(II): додають 25 см ³ розчину ацетату натрію (68 г CH ₃ COONa·3H ₂ O в 500 см ³ води) і 25 см ³ розчину оцтової кисисоти (166,7 см ³ 100%-ї CH ₃ COOH у 500 см ³ води) до 1 дм ³ проби
Розчинені сульфідн	10 см ³ 10%-го розчину ацетату кадмію або цинку на 1 дм ³ проби
Хлорорганічні пестициди	Не консервують. Строк зберігання не більше 7 діб.

Відбір проб води для мікробіологічного аналізу

Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води встановлює ступінь її епідбезпеки відповідно до вимог, що пред'являються при централізованому питному водопостачанні ДСанПіНу N 383/1940 Вода питна. Гігієнічні вимоги до якості води централізованого господарсько-питного водопостачання та ДСТУ 7525 : 2014 Національний стандарт України. Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості.

Основним санітарно-показовим тестом забруднення води виділеннями кишечника теплокровних залишаються бактерії групи кишкових паличок (БГКП). На відміну від переважної більшості країн, в Україні збережено більш жорсткі вимоги до якості питної води щодо даного показника, тобто враховуються всі різновиди глюкозопозитивних коліформних бактерій, а не тільки лактозопозитивні варіанти. Такий підхід є обгрунтованим, оскільки

цілий ряд лактозонегативних кишкових бактерій можуть не тільки потрапляти, а й за відповідних умов розмножуватися у питній воді і спричиняти негативний вплив на стан здоров'я людини. Для уточнення характеру забруднення води представниками кишкових бактерій у ДСанПіНі введено визначення термотолерантних кишкових бактерій (ТКБ). ТКБ є більш специфічними індикаторами фекального забруднення, легко виявляються і в значній мірі представлені саме *E.coli*, тобто показником свіжого фекального забруднення. В окремих випадках, при отриманні незадовільних показників якості води та при незадовільному санітарно-гігієнічному стані системи водопостачання, проводиться визначення саме *E.coli*.

Згідно з вимогами ДСанПіНу індекс БГКП (коліформні бактерії) визначається в об'ємі 1 дм³ води, а ТКБ — відсутність у 100 см³. Проте визначення індексу БГКП в 1 дм³ води передбачає кількісну оцінку, в той час як вимога відсутності ТКБ у 100 см³ води свідчить лише про якісну оцінку, яка проводиться шляхом обов'язкового дослідження трьох об'ємів води по 100 см³.

У ДСанПіНі приділена також велика увага показнику "загальне мікробне число". При невідповідності якості питної води нормативам за органолептичними та іншими інтегральними показниками рекомендовано визначення загальної кількості мікроорганізмів при різних температурах інкубації — при $(36 \pm 1)^\circ \text{C}$ протягом 24 год. та при $(22 \pm 1)^\circ \text{C}$ протягом 48 год. Зростання числа колоній при інкубації $(36 \pm 1)^\circ \text{C}$ свідчить про можливе забруднення антропогенною мікрофлорою. Зростання числа бактерій, які розвиваються при $(22 \pm 1)^\circ \text{C}$, свідчить про погіршення санітарно-гігієнічного стану системи водопідготовки чи водопостачання. Крім того, різке підвищення цього показника може свідчити про появу джерела забруднення або виникнення умов для вторинного розмноження мікроорганізмів. Визначення цього показника на етапах підготовки води несе суттєву інформацію щодо ефективності технології її очищення та знезараження.

Відбір проб води здійснює особа, яка володіє методикою відбору та умов транспортування проб.

Проби води відбирають у спеціально призначені для такого відбору води стерильні флакони місткістю не менше 500 см³ зі щільно закритими пробками, які захищені та фіксовані ковпачками. Пробки повинні бути з матеріалу, який витримує стерилізацію сухим жаром чи в автоклаві. Ватно-марлеві пробки після стерилізації заміняють на стерильні щільні пробки. Найкраще, якщо тара взята попередньо у лабораторії, де буде здійснено її дослідження.

Відбір проб проводять з дотриманням правил асептики: пробка з ковпачком знімається безпосередньо перед відбором проби, край флакона та пробка не повинні ні до чого торкатися. Після відбору проби флакон щільно закривають пробкою з ковпачком, який фіксують.

Проби води з водорозбірних кранів відбирають після їх стерилізації шляхом фламбування тампоном, змоченим спиртом, і наступного спускання води протягом 10–15 хвилин при повністю відкритому крані. Воду відбирають безпосередньо з крану без гумових шлангів, водорозподільчих сіток чи інших насадок. Якщо через пробовідбірний кран відбувається постійний вилив води,

відбір проб проводять без попереднього фламбування, не змінюючи напору води і наявної конструкції, облаштованих силіконовими чи гумовими шлангами.

Проби хлорованої водопровідної води відбирають в ємкості, куди попередньо для нейтралізації залишкової кількості дезінфектанту вносять до стерилізації 10 мг натрію сірчистокиислого у вигляді кристалів чи 2 см³ його 1,5 % розчину на 500 см³ води.

При відборі проб в одній і тій же точці для різних досліджень першими відбирають проби для бактеріологічних досліджень.

При дотриманні вказаних умов термін початку дослідження від моменту відбору проб не повинен перевищувати 6 годин.

Якщо пробу неможливо охолодити, дослідження має бути проведеним не пізніше, ніж через 2 години після її відбору. В разі неможливості дотримання термінів доставки проби і температури зберігання аналіз проводити не рекомендується.

У таблиці 4 вказано показники мікробіологічні та хімічні показники питної води.

Таблиця 4

Моніторингові дослідження на мікробіологічні та хімічні показники води

Показники:	МДЗ*
Ешеріхія колі, в 100 мл	0
Ентерококи, в 100 мл	0
Мікробне число при 22 °С, КУО/мл**	100
Мікробне число при 37 °С, КУО/мл**	20
Колір	≤ 20 °
Смак	нейтральний
Мутність	≤ 10 mg/l SiO ₂
Температура	≥ 8 та ≤ 15 °С
Реакція (рН)	≥ 6.5 та ≤ 9.5 рН
Загальна твердість	2500 μS cm ⁻¹
Хлориди	250 mg/l
Нітрити	0.5 mg/l
Йони амонію	0.50 mg/l
Ферум	200 mg/l
Кальцій	150 mg/l
Магній	80 mg/l

Примітки: * МДЗ – максимально допустимі значення

** КУО – колонійутворюючі одиниці

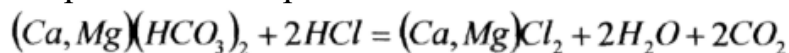
Лабораторна робота № 4
Визначення хімічних показників води

Мета роботи: оволодіти методами визначення хімічного складу води.

Завдання: провести відбір проб води та визначення вмісту хімічного складу води.

Визначення тимчасової (карбонатної) твердості води

Тимчасову твердість води (T_K) визначають титруванням проби досліджуваної води розчином хлоридної кислоти:



і розраховують згідно формули

$$T_K = \frac{V_1 \cdot C \cdot 1000}{V_2}$$

де T_K - тимчасова (карбонатна) твердість води, ммоль-екв/л;

V_1 — об'єм хлоридної кислоти, витрачений на титрування, см³;

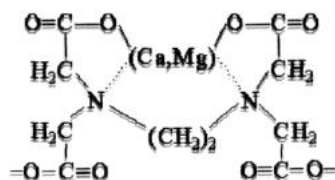
V_2 — об'єм води, взятий для аналізу, см³;

C — концентрація розчину хлоридної кислоти, моль/дм³.

В конічну колбу відбирають 100 мл аналізованої води і титрують розчином хлоридної кислоти концентрацією 0,1 моль/дм³ з індикатором — метиловим оранжевим до появи рожевого забарвлення.

Визначення загальної твердості води

Загальну твердість води визначають методом комплексометричного титрування, який ґрунтується на утворенні міцної сполуки трилону Б з йонами кальцію і магнію. Титрування води проводять в присутності індикаторів — хромогенів у слаболужному середовищі, яке створюють буферним розчином, що містить NH_4OH і NH_4Cl (аміачна суміш). При цьому йони Ca^{2+} і Mg^{2+} зв'язуються трилоном Б у комплексну сполуку:



Зміна забарвлення індикатора від червоно-фіолетового до синьо-фіолетового свідчить про повне зв'язування у воді трилоном Б йонів кальцію і магнію. Загальну твердість води розраховують за формулою:

$$T_3 = \frac{V_1 \cdot C \cdot 1000}{V_2}$$

де T_3 — загальна твердість води, ммоль-екв/дм³;

V_1 — об'єм трилону Б, який пішов на титрування проби води, см³;

C — концентрація трилону Б, моль-екв/дм³;

V_2 — об'єм води, взятий для визначення, см³.

В конічну колбу вносять 100 см³ досліджуваної води. Потім

добавляють 5 см³ буферного розчину, 5–7 крапель індикатора і зразу ж титрують при сильному збовтуванні розчином трилону Б до зміни забарвлення у еквівалентній точці.

Якщо на титрування витрачено більше 10 см³ розчину трилону Б то це вказує, що у відміряному об'ємі води сумарний вміст іонів Ca²⁺ і Mg²⁺ більше 5 ммоль-екв/дм³. У таких випадках визначення слід повторити, взявши менший об'єм води і довівши його до 100 см³ дистильованою водою.

Примітка. Визначенню загальної твердості мішають домішки йонів купруму, цинку, мангану і високий вміст карбонатних і гідрокарбонатних солей. Нечітка зміна забарвлення в еквівалентній точці вказує на присутність йонів цинку і купруму. Для усунення впливу заваджаючих речовин до відміряної для титрування проби води добавляють 1–2 см³ розчину сульфиду натрію, після чого проводять титрування як показано вище. Якщо після добавки до відміряного об'єму води буферного розчину та індикатора розчин поступово знебарвлюється, набуваючи сірого кольору, то це вказує на присутність мангану. Тоді до проби води перед внесенням реактивів слід додати 5 крапель розчину солянокислого гідроксиламіну і визначати твердість, як показано вище. Титрування набуває вкрай зтяжнього характеру, з постійним і нечітким забарвленням у еквівалентній точці, що спостерігається при високій лужності води. Для усунення лужності до проби води, відібраної для титрування, додають розчин HCl концентрацією 0,1 моль/дм³ з наступним кип'ятінням або продуванням повітря протягом 5 хв. Після цього приливають буферний розчин, індикатор і визначають твердість. В подальшому розраховують загальну твердість води за вище наведеною формулою.

Визначення окиснюваності води

Окиснювальність води визначається методом перманганатометрії. При цьому окиснюються тільки легкоокиснювані органічні домішки. Для одержання більш точних результатів використовують зворотне титрування надлишку перманганату калію. До прокип'яченої проби добавляють надлишок оксалатної кислоти, при цьому частина її окиснюється перманганатом калію, що залишився, а залишки оксалатної кислоти відтитровують перманганатом калію.

У конічну колбу відміряють піпеткою 100 см³ досліджуваної води, добавляють 5 см³ сульфатної кислоти та із бюретки приливають 10 см³ розчину перманганату калію. Колбу закривають лійкою, суміш кип'ятять 10 хв., рахуючи з моменту закипання. Щоб не було інтенсивного кипіння, в колбу ставлять скляні капіляри. До гарячої зафарбованої рідини приливають із бюретки 10 см³ розчину оксалатної кислоти, перемішують. Гарячий обезбарвлений розчин титрують розчином перманганату калію концентрацією 0,002 моль/дм³ до появи слабо-рожевого забарвлення, яке не зникає 2–3 хв.

Якщо при титруванні після введення в досліджувану воду оксалатної кислоти розхід розчину перманганату калію буде більше 5 см³, аналіз слід повторити з попереднім розбавленням досліджуваної води дистильованою. При цьому необхідно визначити окиснюваність дистильованої води, а також, врахувати кратність розбавлення. Окиснюваність води (в перерахунку на оксиген) розраховують за формулою:

$$m_{(O_2)} = \frac{[V_1 - (V_2 + V_3)] \cdot C \cdot 158 \cdot 0,253 \cdot 1000}{V_4}$$

де V_1 — загальний об'єм перманганату калію, добавленого в пробу, см^3 ;
 V_2 — об'єм розчину перманганату калію, що йде на окиснення органічних речовин у воді, введений у пробу для розбавлення досліджуваної води, см^3 ;
 V_3 — об'єм перманганату калію, який йде на окиснення 10 см^3 щавлевої кислоти, см^3 ;
 V_4 — об'єм досліджуваної води, см^3 ;
 C — концентрація перманганату калію, моль/дм^3 ;
 158 — молярна маса перманганату калію, г/моль ;
 $0,253$ — коефіцієнт перерахунку окиснюваності води на кисень;
 $m_{(\text{O}_2)}$ — окиснюваність води, мг/дм^3 .

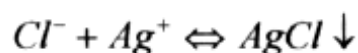
Приклад розрахунку:

Досліджувана вода розбавлена в 10 разів (1 об'єм досліджуваної води і 9 об'ємів дистильованої води), окиснюваність одержаної суміші, обчислена за формулою (2), складає $8,4 \text{ мг/дм}^3 \text{ O}_2$. Окиснюваність дистильованої води рівна $0,4 \text{ мг/дм}^3 \text{ O}_2$. Отже окиснюваність досліджуваної води складає $8,4 - 0,4 \cdot 0,9 = 8,04$

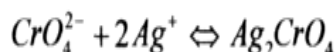
Відповідь: $8,04 \text{ мг/дм}^3 \text{ O}_2$.

Визначення Cl^- у воді

Титриметричне визначення хлоридів аргентометричним методом Мора ґрунтується на утворенні в нейтральному або слабкокислому середовищі ($\text{pH}=7-10$) малорозчинного осаду хлориду аргентуму



Для встановлення кінця титрування як індикатор використовують хромат калію, який з надлишком йонів аргентуму утворює червоний осад — хромат аргентуму:



Зміна забарвлення індикатора від малиново-жовтого до оранжево-жовтого свідчить про виділення хлориду аргентуму та утворення хромату аргентуму. Метод Мора застосовують для визначення хлоридів у воді при концентрації понад 2 мг/дм^3 . Без додаткового розбавлення можна титрувати проби води з концентрацією хлоридів до 400 мг/дм^3 . Залежно від концентрації хлоридів проби титрують $0,1$; $0,05$ або $0,02 \text{ моль/дм}^3$ робочими розчинами нітрату аргентуму. Титруванням розчином нітрату аргентуму визначають також броміди, йодиди та ціаніди; останні розкладають гідроген пероксидом в лужному середовищі.

Для аналізу відбирають 100 см^3 природної води або меншу кількість, доводячи її об'єм бідистилатом до 100 см^3 . Кислі або лужні проби нейтралізують їдким натром з концентрацією приблизно 1 моль/дм^3 або сульфатною кислотою з концентрацією приблизно $0,5 \text{ моль/дм}^3$ по фенолфталеїну так, щоб після нейтралізації розчин був безбарвним. Проби з $\text{pH } 7-10$ не потребують попередньої підготовки. Додають 1 см^3 розчину хромату калію ($C = 1 \text{ моль/дм}^3$) і титрують розчином нітрату аргентуму з

відповідною концентрацією (0,1; 0,05 або 0,02 моль/дм³) до зміни кольору від лимонно-жовтого до оранжевого. Паралельно проводять холостий дослід з таким же об'ємом бідистиляту.

Концентрацію хлорид-іонів, мг/дм³ (C_x) або ммоль-екв/дм³ (C_y), обчислюють за формулами:

$$C_x = \frac{(v_1 - v_0) \cdot C \cdot M \cdot 1000}{v}$$

$$C_y = \frac{(v_1 - v_2) \cdot C \cdot 1000}{v}$$

де v_1 і v_2 — об'єми робочого розчину $AgNO_3$, витрачені на титрування відповідно проби та холостого розчину, см³;

C — концентрація робочого розчину $AgNO_3$, моль/дм³;

v — об'єм проби, см³;

M — молярна маса еквіваленту Cl^- , $M(Cl^-) = 35,45$.

Визначення вмісту карбон (IV) оксиду

Вміст карбон (IV) оксиду визначають титруванням лугом у присутності індикатора — фенолфталеїну до появи забарвлення еталонного розчину (рожевого забарвлення).

В конічну колбу відміряють 200 см³ досліджуваної води, додають 0,2 см³ розчину фенолфталеїну і перемішують. Порівнюють одержане забарвлення з контрольним розчином. Якщо воно більш інтенсивне, то вода не містить карбон (IV) оксиду. Якщо вода не забарвилась або забарвлення слабше еталону, то розчин титрують розчином натрій гідроксиду до забарвлення контрольного розчину. Вміст карбон (IV) оксиду розраховують за формулою:

$$m_{(CO_2)} = \frac{V \cdot C \cdot M \cdot 1000}{V_1}$$

де $m(CO_2)$ — вміст карбон (IV) оксиду, мг/дм³;

V — об'єм розчину гідроксиду натрію, витраченого на титрування проби, см³;

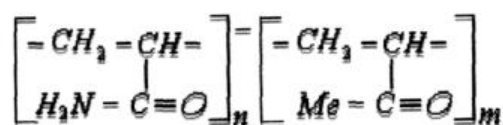
V_1 — об'єм води, взятої на аналіз, см³;

C — концентрація гідроксиду натрію, моль/дм³;

M — молекулярна маса CO_2 , г/моль.

Визначення вмісту завислих речовин у воді

Вміст завислих частинок у воді визначають шляхом обробки води флокулянтном — поліакриламідом (ПАА). Поліакриламід — співполімер поліакриламідів і солей акрилової кислоти (молекулярна маса 5,2-5,6 10^6)



Завислі частинки, які містяться у воді, сорбуються молекулами ПАА і зв'язуються з молекулами полімеру, утворюючи крупні пластівці.

Флокулянт добавляють невеликими порціями (0,4–2,0 % від маси твердих частин).

Пробу води, яка містить шлаки (тверді речовини з розміром частин менше 10 мкм) збовтують і наливають по 250 см³ у два скляні стакани. Потім в кожний стакан добавляють по 5–10 крапель розчину поліакриламід (0,1 %-вого) і перемішують скляною паличкою. Осадження завислих частинок закінчується через 2–3 хв. Освітлену воду в стаканах відділяють декантацією, а тверду частину переносять у попередньо зважені фарфорові чашки. Після цього їх висушують на піщаній бані до постійної маси, зважують (після охолодження) і розраховують вміст завислих частинок у воді (мг/дм³) за формулами:

$$m_x = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 1000}{V}; \quad m_y = \frac{(m_3 - m_1) \cdot 1000}{V}; \quad m_z = \frac{(m_2 - m_3) \cdot 1000}{V}$$

де m_x — вміст завислих частинок, мг/дм³;

m_y — вміст залишку після прожарювання, мг/дм³;

m_2 — втрати при прожарюванні, мг/дм³;

m_1 — маса чашки, мг;

m_2 — маса чашки з висушеним залишком, мг;

m_3 — маса чашки після прожарювання, мг;

V — об'єм проби води, см³.

Визначення вмісту нафтопродуктів

Вміст нафтопродуктів у воді визначають ваговим методом, який полягає у багатократному екстрагуванні нафтопродуктів із води хлороформом і наступному хроматографічному відділенні їх від всіх інших домішок.

200–250 см³ досліджуваної води поміщають у ділильну лійку ємністю 500–1000 см³, з допомогою універсального індикаторного паперу встановлюють рН 7–8 шляхом добавки по краплях 10 %-вого розчину NH₄OH. Якщо досліджувана проба води має рН 8, її підкиснюють 10 %-вим розчином H₂SO₄. Воду у лійці добре перемішують і додають 10 см³ хлороформу. Розчин енергійно збовтують 2 хв., дають рідині добре розшаруватися. Екстракт фільтрують у суху колбу з притертим корком ємністю 100–150 см³. Операцію проводять ще раз і після розділення рідин шар хлороформу зливають у ту ж колбу. До води, що залишилася у ділильній лійці, по краплях додають 10 %-вий розчин H₂SO₄ до рН 3 (за універсальним індикаторним папером), потім додають 10 см³ хлороформу, збовтують 2 хв. Після розшарування органічний шар зливають у ту ж колбу. Екстрагування повторюють ще раз, приєднуючи екстракти до попередніх трьох порцій. Потім із цієї рідини відганяють хлороформ на водяній бані при 60–70 °С. Залишок після відгонки хлороформу розчиняють у 3 мл н-гексану або петролейного етеру і переносять розчин у колонку з оксидом алюмінію (об'єм оксиду алюмінію 50 см³, висота шару 30 мм). Колбочку промивають 2–3 рази (порціями по 2 см³) петролейним етером і пропускають одержаний розчин через колонку з Al₂O₃, слідкуючи, щоб рівень розчину в колонці не опускався

нижче верхнього шару оксиду алюмінію. Потім ще раз промивають колонку 1–2 см³ н-гексану або петролейного етеру. Швидкість проходження розчину в колонці залежить від типу нафтопродуктів, але тривалість повинна бути не більше 1 год. Розчин, що пройшов через шар Al₂O₃ збирають у доведений до постійної маси колбочку на 100 см³. Потім відганяють петролейний етер при 60–70 °С і колбочку доводять до постійної маси. Розраховують масу по різниці.

Вміст нафтопродуктів знаходять за формулою:

$$m_n = \frac{m \cdot 100}{V}$$

де m — маса нафтопродуктів у пробі, мг;

m_n — вміст нафтопродуктів, мг/дм³;

V — об'єм проби, дм³.

Результати роботи і розрахунків записують у таблицю 5.

Таблиця 5

Показники хімічного складу води

Твердість води, ммоль/л			Вміст, мг/л				
Загальна	тимчасова	постійна	CO ₂	Cl ₂	O ₂	завислі частинки	нафтопродукти

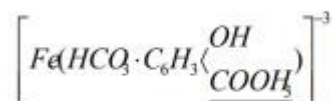
Лабораторна робота № 5

Визначення вмісту феруму у воді методом фотометрії

Мета роботи: закріпити теоретичних знання і набути навичок щодо визначення вмісту феруму у воді методом фотометрії.

Завдання: зробити висновок щодо якості води за показником загального вмісту феруму.

У поверхневих водах ферум (II) міститься у достатньо стійкій формі гуміновокислого феруму, в підземних водах зустрічається, головним чином, у вигляді бікарбонатів Fe(HCO₃)₂. При контакті підземної води з повітрям бікарбонат феруму окиснюється з утворенням бурих пластівців Fe(OH)₃, які надають воді мутність та жовте забарвлення (якщо вміст феруму перевищує 0,3 мг/л). При концентрації феруму вище 1 мг/л вода набуває в'язучого присмаку. Високий вміст феруму погіршує органолептичні властивості води. Така вода стає непридатною до використання у молочному та текстильному виробництві, стимулює розмноження залізобактерій у водопровідних комунікаціях, що призводить до їх заростання та скорочення строків експлуатації. У водопровідній воді вміст феруму не повинен перевищувати 0,3 мг/л. В основу методу визначення феруму у воді покладена здатність сульфосаліцилової кислоти у лужному середовищі (рН = 8–11,5) утворювати з солями феруму (II та III) забарвлені у жовтий колір комплексні сполуки наступного складу:



Інтенсивність забарвлення комплексів пропорційно концентрації феруму у розчині.

Обладнання, матеріали та реактиви:

- фотоелектрокалориметр ФЕК–26;
- електроплитка;
- піпетки на 1 мл та 10 мл;
- пробірки на 25–30 мл;
- термостійка склянка на 200 мл;
- дистильована вода;
- мірна колба на 100 мл;
- сульфосаліцилова кислота 10%;
- аміак, водний розчин 10 %;
- конц. сульфатна кислота;
- нітратна кислота;
- стандартний розчин феруму (залізоамонійні квасці) 0,8634 г розчиняють у дист. воді, далі додають 10 мл сульфатної кислоти і доводять об'єм розчину до 1 л. В 1 мл робочого стандартного розчину міститься 0,01 мг Fe.

Хід роботи:

1. Пробу води розбавити (не фільтрувати). Якщо вода містить багато органічних речовин в склянку з водою додати 2 мл конц. сульфатної кислоти та нагріти рідину до початку виділення густих білих випаровувань SO_3 . Не припиняючи нагрівання необхідно внести 2–3 краплини конц. HNO_3 . Розчин має знебарвитись і стати прозорим.

2. Оброблену пробу перенести у мірну колбу на 100 мл. Внести в колбу 5 мл 10% розчину сульфосаліцилової кислоти та нейтралізувати її 5 мл 10 % аміаку, додаючи його з надлишком, до пожовтіння проби.

3. Пробу охолодити, об'єм зразку довести до 100 мл та виміряти його оптичну густину на фотоколориметрі при довжині хвилі 420 нм.

4. Для побудови калібрувального графіку у пробірки налити: 0,1; 0,3; 0,5; 0,6; 0,8; 1 мл робочого стандартного розчину. Об'єм до 10 мл довести дистильованою водою. Побудувати графік.

5. Визначити вміст феруму в досліджуваній пробі води. Концентрацію феруму визначити за формулою:

$$C = C_x \cdot 100,$$

де C_x — концентрація заліза, що визначена за калібрувальним графіком.

Лабораторна робота № 6

Визначення хімічного споживання кисню в стічних водах

Мета роботи: оволодіти методом визначення хімічного споживання кисню в стічних водах.

Завдання: провести відбір проб води та хімічне споживання кисню в стічних водах.

У природних водах практично завжди присутні органічні речовини, які впливають на їх санітарно-токсикологічну характеристику.

Усі органічні речовини, які містяться в природних водах, можна розділити на дві групи:

- 1) стійкі органічні сполуки — продукти розкладання рослинних і тваринних організмів, тобто відмерлої органічної матерії;
- 2) нестійкі органічні речовини — фізіологічні відходи життєдіяльності людей і тварин.

Органічні речовини, як забруднювачі природних вод, утворюються безпосередньо у водоймах або потрапляють у них зі стічними водами.

Різноманітність складу органічних речовин утруднює їх безпосереднє визначення в природних водах. Тому про загальний ступінь забруднення води органічними речовинами судять за результатами непрямих методів визначення, а саме **окиснюваності**. Розрізняють перманганатну, дихроматну окиснюваність та біологічне споживання кисню (БСО). Зазвичай, перманганатну окиснюваність визначають для природних вод, придатних для господарсько-питного використання, які практично не містять органічних речовин. У випадку сильно забруднених поверхневих та стічних водах уміст органічних домішок визначають за допомогою сильнішого окисника — калію дихромату і цей показник називають **хімічне споживання кисню (ХСО)**. Серед методів очищення води важливе місце займають біологічні, які є найекологічнішими і найекономічнішими. Значення показника БСО дає змогу оцінити придатність аеробного біологічного процесу для очищення досліджуваної води. До санітарно-токсикологічних показників також належать різні форми нітрогену (амонійний, нітритний, нітратний).

Окиснюваність води — це умовний показник, який виражають в міліграмах кисню, необхідного для окиснення органічних домішок, що містяться в 1 дм³ води. Чим вище значення окиснюваності, тим більше у воді органічних сполук і тим менш придатною є ця вода для споживання. Окиснюваність істотно залежить від виду природної води, тобто її походження. Так, в чистих джерельних і артезіанських водах окиснюваність, зазвичай, дорівнює 1,0...2,0 мг/дм³. Для річкових вод цей показник коливається в достатньо широких межах від 1,0 до 60 мг/дм³; він залежить від режиму течії річки, її глибини, видового складу екосистем, характеру ґрунтів, які утворюють русло, розвитку сільського господарства чи промисловості на території басейну річки тощо. Воду вважають придатною для господарсько-питних потреб, якщо її окиснюваність не перевищує 3 мг/дм³. Високе значення окиснюваності води

свідчить про забруднення і необхідність застосування відповідних заходів з водопідготовки для подальшого її використання.

Під час визначення перманганатної окиснюваності як окисник використовують калію перманганат у кислому середовищі. Цим методом можна визначати окиснюваність води без її попереднього розведення до 10 мг/дм³. Отримані результати є достовірними до 10-кратного розведення, тобто за окиснюваності води, яка не перевищує 100 мг/дм³.

Дихроматну окиснюваність визначають, якщо природна вода забруднена промисловими стоками, або під час аналізу стічних вод. Інша назва дихроматної окиснюваності — хімічне споживання кисню.

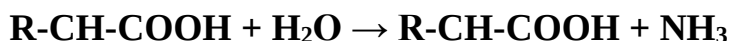
Хімічне споживання кисню — це кількість кисню (або окисника в перерахунку на кисень) в міліграмах, яка необхідна для повного хімічного окиснення всіх органічних речовин, які містяться в 1 дм³ проби. У цьому випадку сполуки карбону, нітрогену, сульфуру, фосфору окиснюються до CO₂, H₂O, SO₃, P₂O₅, відповідно. Цей показник визначають за допомогою розчину сильного окисника — калію дихромату та вимірюють у мг O₂/дм³.

На відміну від БСО, ХСО враховує не тільки ту частину органічних речовин-забруднювачів, які легко окиснюються, але й усі присутні в пробі органічні речовини, крім піридину, піролу, піролідину, проліну, нікотинової кислоти, а також малорозчинних у воді карбоногідрогенів (бензолу та його гомологів, парафіну, нафталіну). Ці домішки визначають за спеціальною методикою.

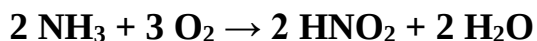
Біохімічне споживання кисню (БСО) характеризує забруднення вод органічними домішками, які здатні розкласти мікроорганізми. Величину БСО визначають кількістю кисню в мг/дм³, витраченого за певний проміжок часу (5, 10 або 20 діб) на аеробне біохімічне окиснення органічних сполук, які містяться у воді, мікроорганізмами. Практично повним БСО вважають кількість кисню, необхідного для окиснення органічних речовин до початку нітрифікації (окиснення амонійного нітрогену).

Нітрогенвмісні речовини у вигляді йонів амонію (NH₄⁺), нітрит- (NO₂⁻) та нітрат- (NO₃⁻) йонів утворюються в природних водах, переважно, внаслідок розкладання сечовини та білкових сполук, які утворюються під час життєдіяльності водної флори і фауни. Вони також потрапляють у водойми із господарсько-побутовими стоками та стоками деяких підприємств хімічної промисловості (содових, коксохімічних тощо).

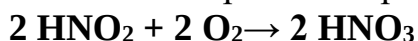
Білкові речовини під дією мікроорганізмів розкладаються, внаслідок чого утворюється аміак за схемою:



Розчинений у воді аміак нестійкий і під дією фізико-хімічних та біохімічних процесів окиснюється до інших форм нітрогену. Спочатку за наявності у воді розчиненого кисню бактерії *Nitrosomonas* окиснюють аміак до нітратної форми:



Бактерії *Nitrobakter* окиснюють нітрити в нітрати:



Перетворення аміаку через утворення нітрит-йону до нітрат-йону ($\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$) називають нітрифікацією.

Отже, за кількісним вмістом NH_3 , NO_2^- , NO_3^- у воді можна зробити висновок про давність забруднення водойми речовинами, які містять сполуки нітрогену. Наявність у воді аміаку та відсутність нітритів вказують на свіже забруднення води, оскільки аміак ще не встиг окиснитись. Якщо у воді присутні аміак та нітрити, то це означає, що з моменту забруднення пройшов певний час. Відсутність аміаку за наявності нітритів, а, особливо, нітратів, свідчить про те, що забруднення є давнім.

Сполуки нітрогену відносять до групи біогенних сполук, оскільки вони впливають на життєдіяльність організмів у воді. За їх значного вмісту у водоймах спостерігають масовий розвиток водоростей (“цвітіння” води), що пояснюють участю нітрогену в процесі фотосинтезу. У цьому випадку можливе обростання труб (як ззовні, так і зсередини), підводних споруд тощо.

Для господарсько-питних потреб використовують воду, яка майже не містить амонійного та нітратного нітрогену. Присутність нітратів також є небажаною, оскільки в організмі вони можуть відновлюватись до нітритів, які взаємодіють з гемоглобіном і зменшують його здатність до перенесення кисню. У питній воді, відповідно до ДСанПіН 2.2.4-400-10 «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною», вміст нітратів не повинен перевищувати 50 мг/дм³.

Вимоги до води та області її використання залежно від ступеня забруднення

Санітарно-токсикологічні показники якості природних вод повинні відповідати певним вимогам. У табл. 6 і 7 наведено вимоги до якості води та області використання залежно від ступеня її забруднення.

Таблиця 6

Санітарно-токсикологічні показники якості води

Ступінь забруднення	Окиснюваність перманганатна, мг/дм ³	БСО ₅ , мг/дм ³	Нітроген амонійний, мг/дм ³
Дуже чиста	≤ 1	0,5 – 1,0	≤ 0,05
Чиста	1 – 2	1 – 2	0,05 – 0,10
Помірно забруднена	2 – 3	2 – 3	0,20 – 0,30
Забруднена	3 – 5	3 – 4	0,40 – 1,0
Брудна	5 – 15	4 – 10	1,0 – 3,0
Дуже брудна	>15	> 10	> 3

Вплив забруднення на можливість використання води

Ступінь забруднення	Види використання				
	Господарсько-питне	Купання, спорт	Рибне господарство	Промислове	Зрошування, сільське господарство
Дуже чиста	Придатна	Придатна	Придатна	Придатна	Придатна
Чиста	Придатна	Придатна	Придатна	Придатна	Придатна
Помірно забруднена	Придатна з очищенням	Придатна з очищенням	Придатна для деяких видів риб	Придатна з очищенням	Придатна з обмеженням
Забруднена	Непридатна	Непридатна	Непридатна	Непридатна	Непридатна
Брудна	Непридатна	Цілком непридатна	Непридатна	Непридатна	Непридатна
Дуже брудна	Непридатна	Цілком непридатна	Непридатна	Непридатна	Непридатна

Як видно з наведених таблиць, вода повинна відповідати досить жорстким вимогам щодо окиснюваності, вмісту амонійного нітрогену. Тому в більшості випадків перед використанням води залежно від категорії водойми обов'язковим є її фізичне, хімічне та фізико-хімічне очищення.

Методика визначення ХСО для сильно забруднених поверхневих вод

Сильно забруднені води розбавляють перед визначенням так, щоб на окиснення витраталось не більше 50 % калію дихромату, що додають.

Хід визначення. Відбирають 20 см³ проби (або менший, точно відміряний об'єм, який доводять до 20 см³ дистильованою водою) і поміщають його в конічну колбу для кип'ятіння. Туди ж додають 10 см³ 0,25 н розчину K₂Cr₂O₇, 0,4 г меркурію(II) сульфату і 0,4 г аргентуму(I) сульфату, а також прискорювачі кипіння — скляні кульки або кусочки пемзи. Суміш перемішують і обережно доливають 30 см³ концентрованої сульфатної кислоти. Колбу з'єднують зі зворотним холодильником і кип'ятять протягом 2 год. Потім колбу охолоджують, від'єднують холодильник, доливають в неї 100 мл дистильованої води і знову охолоджують. До розчину додають 2...3 краплі розчину ферроїну або 5 крапель N-фенілантранілової кислоти і титрують надлишок калію дихромату розчином солі Мора до зміни забарвлення індикатора з винно-червого до смарагдового.

Точку еквівалентності під час титрування можна також зафіксувати потенціометрично.

Паралельно проводять дослід з 20 см³ дистильованої води (холосте випробовування). Біхроматну окиснюваність (X) в (мг О₂) / дм³ визначають за формулою:

$$X = \frac{(a - b)k \cdot 0,25 \cdot E \cdot 1000}{V} = \frac{2000(a - b)k}{V},$$

a — об'єм розчину солі Мора, витраченого на титрування холостої проби, см³;

b — об'єм розчину солі Мора, витраченого на титрування проби води, см³;

k — поправочний коефіцієнт для концентрації розчину солі Мора;

V — об'єм проби досліджуваної води, см³;

E — еквівалентна маса оксигену, г/екв.

Методика визначення ХСО для стічних вод арбітражним методом

Хід визначення. Відбирають таку порцію стічної води, щоб на її окиснення витрачалось не більше 20 см³ титрованого розчину калію дихромату, розбавляють її дистильованою водою до 50 см³, кількісно переносять у конічну колбу місткістю 300 см³, додають 25 см³ титрованого розчину калію дихромату і обережно, малими порціями вливають 75 см³ концентрованої сульфатної кислоти, старанно перемішуючи суміш після додавання кожної порції. Після цього для зв'язування йонів хлору додають 0,3-0,4 г аргентуму (І) сульфату, опускають у колбу декілька скляних кульок або шматочків пемзи, закривають корком, з'єднують зі зворотним холодильником і нагрівають до слабого кипіння. Кип'ятять протягом двох годин.

Потім реакційне середовище охолоджують, омивають стінки холодильника 25 см³ дистильованої води і переносять розчин в конічну колбу об'ємом 500 см³. Для запобігання втрат реакційного розчину стінки першої колби декілька разів ополіскують дистильованою водою. Додають дистильовану воду до об'єму 350 см³, вводять 3-4 краплі розчину фероїну або 10-15 крапель розчину N-фенілантранілової кислоти, як індикатора, і відтитровують надлишок калію дихромату титрованим розчином солі Мора.

Паралельно проводять холосте випробування — для цього беруть 50 см³ дистильованої води і аналізують, як описано вище.

Обчислення.

Хімічне споживання оксигенк (ХСО), в мг / дм³, розраховують за формулою

$$XCO = (a - b) \cdot C_N \cdot E \cdot 1000 / V,$$

a — об'єм розчину солі Мора, який витрачають на титрування холостої проби, см³;

b — об'єм розчину солі Мора, який витрачають на титрування досліджуваної проби, см³;

C_N — нормальність розчину солі Мора, екв/дм³;

V — об'єм проби, відібраної для аналізу, см³;

E — еквівалентна маса оксигену, г/екв.

Завдяки застосуванню сильного окисника (калію дихромату) в середовищі сульфатної кислоти та виконанню аналізу за високих температур (кипіння протягом двох годин) досягають повного окиснення органічних сполук у воді. Однак окиснення органічних сполук відбувається протягом

тривалого часу. Леткі органічні сполуки, які знаходяться в стоках, протягом тривалого кипіння можуть частково випаровуватись. Про це свідчить доволі значна різниця визначеного ХСО у паралельних пробах, яка становила 20...25 %. Відтак застосування арбітражного методу для визначення ХСО у стічних водах є недоцільним.

Методика визначення ХСО за ДСТУ ISO 6060: 2003

За фізико-хімічними основами метод схожий з попередніми, але відрізняється деякими параметрами визначення, наприклад тривалістю кип'ятіння, яке триває всього 10 хв.

Хід визначення. Наливають 10 см³ проби в реакційну колбу місткістю 250 см³ та додають 5 см³ розчину калію дихромату ($C = 0,04$ моль/дм³), що містить у собі сіль Меркурію. Додають кілька прискорювачів кипіння (скляні кульки діаметром 2–3 мм або інші прискорювачі) до проби води, яку досліджують та ретельно перемішують. Об'єм проби води повинен бути не меншим 10 см³.

Повільно додають 15 см³ аргентуму(І) сульфату в сульфатній кислоті та негайно приєднують колбу до зворотного холодильника для мінімізації втрат органічних сполук, які можуть переходити у газову фазу.

Доводять суміш до кипіння протягом 10 хв. і продовжують кип'ятити реакційне середовище ще протягом 10 хв. Температура реакційної суміші повинна становити (148 ± 3) °С. Реакційна суміш повинна кипіти повільно без стрибків. Стрибки свідчать про місцеве перегрівання розчину, що може призвести до невірних результатів.

Після 10 хв. колбу негайно охолоджують у холодній воді до температури близько 60 °С та промивають зворотний холодильник невеликим об'ємом води. Знімають холодильник і доводять об'єм реакційної суміші до 75 см³, яку охолоджують до кімнатної температури.

Надлишок калію дихромату титрують амонієво-залізними (ІІ) галунами ($C = 0,12$ моль/дм³), використовуючи 1–2 краплі фероїну, як індикатора. Хоча кількість фероїну, що її додають, не є критичною, її треба, за можливості, підтримувати на одному рівні. Як кінцеву точку титрування приймають першу різку зміну кольору з синьо-зеленого до червонувато-коричневого, хоча синьо-зелений колір може з'явитись знову через кілька хвилин.

Холосте випробування. Проводять два холостих випробування паралельно до кожного визначення з 10 см³ дистильованої води.

Обчислення.

Хімічне споживання кисню (ХСО), в мг/дм³, розраховують за формулою:

$$\text{ХСО} = E \cdot 1000 \cdot C_M (V_1 - V_2) / V_0,$$

де C_M — концентрація амонієво-залізних(ІІ) галунів, моль/дм³;

V_0 — об'єм проби до розведення, см³;

V_1 — об'єм амонієво-залізних(ІІ) галунів, витрачений на холосте титрування, см³;

V_2 — об'єм амонієво-залізних(ІІ) галунів, витрачений на титрування проби, яку аналізували, см³;

E — еквівалентна маса кисню, г/екв.

Прискорений метод визначення ХСО

Цей метод призначений для постійних щоденних аналізів, що проводять для контролю роботи очисних споруд або за станом води у водоймі. Результати визначення, як правило, отримують дещо нижчі, ніж при використанні арбітражного методу, але вони, зазвичай, добре відтворювані. Рекомендовано періодично проводити визначення обома методами, прискореним і арбітражним, для знаходження, приблизно, коефіцієнта перерахунку. Слід враховувати, що розходження між результатами обох методів особливо великі, коли в пробі містяться речовини, які важко окислюються. Такі як оцтова кислота, аланін, бензол тощо.

Головною особливістю прискореного методу є використання H_2SO_4 підвищеної концентрації. Під час змішування води з концентрованою сульфатною кислотою температура підвищується за рахунок теплоти, що виділяється, тому нагрівання ззовні не потрібне.

Хід визначення. Якщо окиснюваність води, що аналізують знаходиться в межах 500–4000 мг О/дм³, то відбирають 1 см³ проби; якщо окиснюваність 50–500 мг О/дм³ — 5 см³ проби; якщо окиснюваність перевищує 4000 мг О/дм³ — пробу попередньо розбавляють; якщо окиснюваність нижча 50 мг О/дм³ — метод не використовують.

У пробу вносять 2,5 см³ 0,25 н розчину калію дихромату, потім 0,2 г меркурію (II) сульфату і під час перемішування — концентровану сульфатну кислоту (7,5 см³ для 1 см³ проби, або 15 см³ для 5 см³ проби). У цьому випадку температура розчину зростає понад 1000°C. Розчин витримують за таких умов 2 хв., а потім охолоджують, під струменем протічної води, до кімнатної температури. В охолоджений розчин додають 100 см³ дистильованої води і титрують надлишок калію біхромату сіллю Мора в присутності індикатора, як в арбітражному методі.

Розрахунок проводять так само, як у арбітражному методі.

Лабораторна робота № 7 Відбір проб ґрунту та мулу

Мета роботи: оволодіти методом відбору проб ґрунту та мулу.

Завдання: провести відбір проб ґрунту та мулу.

Відбирання проб ґрунту є важливим для його дослідження, яке полягає у визначенні поширення і ступеня забруднення ділянки, що досліджується. Основними шляхами надходження забруднення до ґрунту є вітрове перенесення пилу, аерозолів, перенесення речовин у розчиненому вигляді з поверхневими та ґрунтовими водами, випаровування, фотодеграція. З ґрунту забруднювальні речовини можуть переміщуватись у поверхневі води, продукцію сільськогосподарської діяльності (рослинницьку та тваринницьку), з пилом — у повітря, саме тому дуже важливим є встановлення та дотримання чітких вимог відбирання проб.

Перед початком відбору проб ґрунту необхідно скласти карту місцевості та промислових підприємств і вибрати місце для пробної ділянки. Правильно і детально складена карта місцевості, де планується відбирання проб ґрунту, дасть можливість уникнути ряду помилок і допоможе визначити найбільш оптимальне місце для відбору проб. Під час контролю забруднення ґрунту підприємствами промисловості пробні ділянки вибирають вздовж векторів «рози вітрів». Більшість проб необхідно відбирати у напрямку переважаючих протягом року вітрів. Для визначення цього напрямку використовують річну «розу вітрів». У разі неоднорідного рельєфу місцевості пробні ділянки розташовують з урахуванням рельєфу. Одна проба має характеризувати однотипну ділянку з відповідним рельєфом.

Під час планування місць відбору проб необхідно отримати інформацію стосовно переліку підприємств, які можуть забруднювати довкілля або забруднювали його у минулому. Такі відомості надаються органами місцевої влади. Перелік підприємств, шкіл та дитячих садків, а також інформацію про них викладають на окремих аркушах. На карті міста ставлять відповідні номери за переліками. На карті чи плані населеного пункту зазначають місце розташування джерел забруднення, окреслюючи це місце прямокутником (ставити хрестик на місці приблизного розташування підприємства забороняється).

Проби ґрунту характеризують надходження забруднювальної речовини зі стаціонарного точкового джерела певного розміру. Джерелами можуть бути димові труби, аварійні несанкціоновані викиди, випадкові викиди, відвали відходів, викиди з промислових майданчиків, суттєві витіки з магістралей стічних вод та інших трубопроводів. Надходження з одного джерела може бути причиною появи як локально забруднених ділянок, так і однорідно забруднених ділянок певної площі.

Проби відбирають у промисловій та селітебній зоні (поблизу дитсадків, шкіл, дитячих майданчиків або місць відпочинку, тощо), на яку має безпосередній вплив підприємство-забруднювач. Під час опису проби вказують приналежність до зони впливу певного підприємства та відстань до джерела забруднення (поряд з підприємством, 100 м від місця аварії тощо).

Дитячі майданчики та місця відпочинку (паркові зони) можна розглядати з точки зору можливого негативного впливу на відвідувачів за рахунок контакту з ґрунтом, вдихання пилу та газів тощо.

Не можна відбирати проби ближче 50 м від доріг, лісосмуг, поблизу складів мінеральних добрив, куп органічних і мінеральних добрив, на ділянках з різко відмінним від фонового станом рослинності. Проби, відібрані у межах до 20 м від дороги, більшою мірою характеризують локальне забруднення від викидів автотранспорту (те саме стосується під'їзних доріг до воріт підприємств). Якщо є можливість, проби із зон впливу підприємств краще відбирати у дворах житлових будинків, що дозволяє частково виключити вплив вуличного автотранспорту. Не варто відбирати проби ґрунту на клумбах, земля для яких може бути завезена з іншої ділянки.

Під час відбирання проб визначають фіксовану (реперну) точку (точка

відліку для опису проби). Нею може бути якась частина будівлі підприємства — прохідна, вантажні (транспортні) ворота, вхід до будинку. Такими точками можуть бути пам'ятники, окремо розташовані архітектурні елементи. У жодному разі не можна використовувати за точку для відбору в містах цілий комплекс підприємства, паркан підприємства, інші об'єкти, що мають певну протяжність.

Відбір проб ґрунту

Пробу ґрунту для аналізу відбирають лопатою або ґрунтовим буром. Маса об'єднаної проби має складати близько одного кілограма.

Під час відбирання проби верхній шар ґрунту 1–5 см знімають, відбір здійснюють з глибини 5–20 см методом конверта. Одна гніздова проба складається з 5 точкових проб, які відібрані на майданчику 2 м х 2 м у чотирьох кутах уявного конверта та посередині нього. З відібраної проби видаляють візуально помітні рештки рослинності, елементи ґрунтової фауни, сторонні домішки. Потім ці 5 точкових проб змішують методом квартування на листку щільного паперу (типу «крафт») і висипають до паперового пакета. Такий спосіб відбирання пояснюється тим, що у населених пунктах у верхньому шарі ґрунту спостерігається підвищений вміст свинцю внаслідок впливу викидів автотранспорту. При відборі точкових проб та формуванні гніздової проби вторинне забруднення проб повинно бути виключене (чиста лопата або бур з нержавіючого металу).

На орних землях проби ґрунту на пестициди відбирають з глибини 10–25 см орного шару. Для зменшення ризику початку розвитку ерозійних процесів прикопи після відбирання проб заповнювати прилеглим ґрунтом.

Кожна проба супроводжується етикеткою. На етикетці вказують назву підприємства, місце розташування (область, район, населений пункт), землекористувача, номер проби, глибину відбирання, дату відбирання, прізвище виконавця.

Відібрані проби ґрунту разом з етикеткою вміщують у мішечки або пакети.

При використанні поліетиленових та/або паперових пакетів їх обов'язково треба захищати від механічного ушкодження, яке може призвести до втрати або забруднення проби.

Підготовка (обробка) зразків ґрунту

Проби сушать до повітряно-сухого стану при температурі до 40⁰С, без сонця та нагрівальних приладів, щоб уникнути розкладання деяких сполук. Сухі проби подрібнюють вручну, застосовуючи ступку з товчачиком, та розтирають, видаляючи сторонні домішки. Розтертий ґрунт просіюють на ситі, залишаючи фракцію частинок менше 1 мм.

Лабораторна робота № 8

Біологічний аналіз активного мулу

Мета роботи: оволодіти методом підрахунку клітин у камері Горяєва.

Завдання: провести підрахунок клітин у камері Горяєва та дати біологічну характеристику активного мулу.

Активний мул — метод біологічного очищення стічних вод, в основі якого лежить біотичний колообіг речовин, що включає процеси утилізації, трансформації та мінералізації органічних речовин за допомогою реалізації процесу аеробної ферментації органічних стоків специфічним комплексом мікроорганізмів з бактерій, грибів, водоростей, найпростіших, коловерток, нематод, кліщів та ін.

Вид біологічного очищення методом активного мулу є екологічно чистим та економічно найбільш раціональним заходом. Більше 90% стічних вод очищається саме цим методом. Біологічна очистка стічних вод, яка застосовується на очисних спорудах каналізації, складає блок біологічної очистки з аеротенків і вторинних відстійників і застосовується після механічної очистки стічних вод в блоках механічної очистки.

Біотехнологія очищення стічних вод активним мулом була запропонована і реалізована в Англії у 1914 р. і відтоді принципово не змінилася.

Біологічне очищення стічних вод здійснюється за рахунок спроможності мікроорганізмів використати для свого живлення органічні речовини необхідні для їхньої життєдіяльності — нітроген, фосфор, калій з різноманітних сполучень, що містяться в стічних водах. В процесі живлення мікроорганізми одержують матеріал для побудови свого тіла, внаслідок чого відбувається приріст маси активного мулу.

Активний мул являє собою складну екосистему, до складу якої входить велика кількість представників мікрофлори і мікрофауни: нитчасті бактерії, гіфи водних грибів, дріжджі, джгутикові, саркодії, інфузорії, коловертки, водні черви та в невеликих кількостях інші багатоклітинні безхребетні (водняні кліщі, гастротрихт тощо). Активний мул на 95 і більше відсотків складається з прокаріотів, здебільшого бактерій, і тільки менше 5% біомаси мулу становлять найпростіші.

Оснoву цієї системи як у кількісному співвідношенні, так і за значимістю в процесі очищення складають бактерії у вигляді пластівцеподібних скупчень — Zoogloea. Здатність активного мулу утворювати міцні пластівці, що швидко осідають (седиментаційна властивість) — відноситься до його головних технологічних властивостей, і їм належить найважливіша роль у забезпеченні надійності роботи біологічних очисних споруд. Порушення седиментаційних властивостей активного мулу призводить до так званого «спухання» активного мулу — він починає мати малу щільність, займає великий об'єм, проходить збільшення мулового індексу до значень понад 150 мл/г, внаслідок чого активний мул не встигає повністю відокремитися від очищеної рідини після двогодинного відстоювання у вторинному відстійнику, починає виноситися з вторинних відстійників і вже не втягується в подальший процес очищення води.

Мікроорганізми активного мулу також є біоідентифікаційними методами моніторингу характеру забруднюючих речовин у стічних водах, а також

ефективним індикатором виявлення якості активного мулу.

Типова технологічна схема такого очищення води. Стічна вода, з блоку механічної очистки, після механічного очищення від крупних часток, що осідають чи спливають у полі земного тяжіння, потрапляє в аеротенк — вузьку (3–11 м), глибоку (4–6 м) і довгу (50–250 м) споруду, де за допомогою дрібнобульбашкового аератора нагнітається повітря. В аеротенку, за постійної аерації стічна вода очищається складним гідробіоценозом — активним мулом. Обробка триває 6–24 (і навіть більш) годин. Після обробки вода надходить у вторинний відстійник, в якому звільняється від активного мулу, а потім потрапляє для так званого третинного фізико-хімічного доочищення (іноді після хлорування) у проміжні водойми (ставки) і, нарешті, у річку. Частину активного мулу з сорбованими неокисненими забрудненнями, що осідає у вторинному відстійнику, повертають до біологічної очисної споруди — аеротенку.

За такої технології утворюється надлишковий мул, що створює складну для розв'язання еколого-технологічну проблему: його дуже багато і він містить небезпечні віріони, мікроорганізми, яйця гельмінтів тощо, а також йони важких металів, біологічно стійкі, токсичні і навіть мутагенні сполуки.

Умови проведення процесу залежать від наявності і оптимального співвідношення в стічних водах органічного гідрогену, нітрогену і фосфору, мікроелементів (сульфуру, мангану, феруму, кобальту та ін.), дотримання гранично допустимих концентрацій забруднюючих речовин, відсутності в стічних водах токсичних для мікроорганізмів речовин, достатньої кількості кисню та інтенсивності аерації, температурного режиму, значення рН, навантаження на мул за кількістю забруднюючих речовин, часу контакту мулу і стічних вод, конструктивних і особливостей споруд та біологічної схеми очищення, та ін.

Способом утилізації надлишкового мулу, а також стічних вод органічного походження може бути метанова ферментація та біометаногенез з отриманням біогазу.

Хід роботи.

Підрахунок клітин в рахункових камерах. Підрахунок клітин у рахункових камерах рекомендується використовувати для підрахунку великих об'єктів — дріжджів, одноклітинних водоростей, конідій грибів і деяких великих бактерій. Зазвичай використовують камеру Горяєва, хоча можна застосовувати й інші рахункові камери. Підрахувати клітини мікроорганізмів під мікроскопом можна, використовуючи рахункові камери, капіляри Перфильєва, препарати фіксованих і пофарбованих клітин, приготовлені на предметних скельцях або мембранних фільтрах. Перераховані методи дозволяють визначити загальну кількість клітин в одиниці об'єму. Варто пам'ятати, що підраховуються всі клітки, як живі, так і мертві. Основне обмеження більшості зазначених методів — необхідність досить високих концентрацій клітин в одиниці досліджуваного субстрату.

Камера Горяєва являє собою прозорий паралелепіпед (предметне скло), з борознами і нанесеною мікроскопічної сіткою. Розміри малих розподілів клітин

сітки становлять 0,05 мм, а великих — 0,2 мм. При цьому сітка нанесена на ділянку скла, розташовану на 0,1 мм нижче, ніж дві сусідні ділянки. Ці ділянки служать для притирання покривного скла. У результаті обсяг рідини над квадратом, утвореним великими поділками сітки Горяєва, становить 0,004 мікролітра. Підрахувавши кількість клітин над великим квадратом, можна підрахувати щільність даного типу клітин в суспензії за формулою:

Кількість клітин/мл = кількість клітин над великим квадратом (N) × 2,5.

При роботі з камерою необхідно дотримуватися встановленого порядку її заповнення:

- спочатку поглиблення з сіткою покривають спеціальним шліфованим покривним склом і, злегка притискаючи, зміщують покривне скло в протилежні сторони до появи кілець Ньютона. Ці кільця вказують на те, що покривне скло притерто до сторін камери. Тільки за такої умови обсяг суспензії мікроорганізмів, що знаходиться в камері, відповідає розрахунковому.

- Після цього камеру заповнюють досліджуваною суспензією мікроорганізмів. Суспензію вносять через борозенку камери капіляром або піпеткою.

- Підрахунок клітин рекомендується починати через 3–5 хв. після заповнення камери, щоб клітини осіли і при мікроскопіюванні були видимі в одній площині.

- Число клітин підраховують з об'єктивом 8× або 40×. З імерсійним об'єктивом працювати не можна, тому що його фокусна відстань менше товщини скла камери. Зазвичай підраховують клітини мікроорганізмів в 10 великих або 20 маленьких квадратах сітки, переміщаючи останні по діагоналі. Підраховують всі клітини, що лежать в квадраті сітки, а також клітини, що перетинають верхню і праву сторони квадрата (рис. 1).

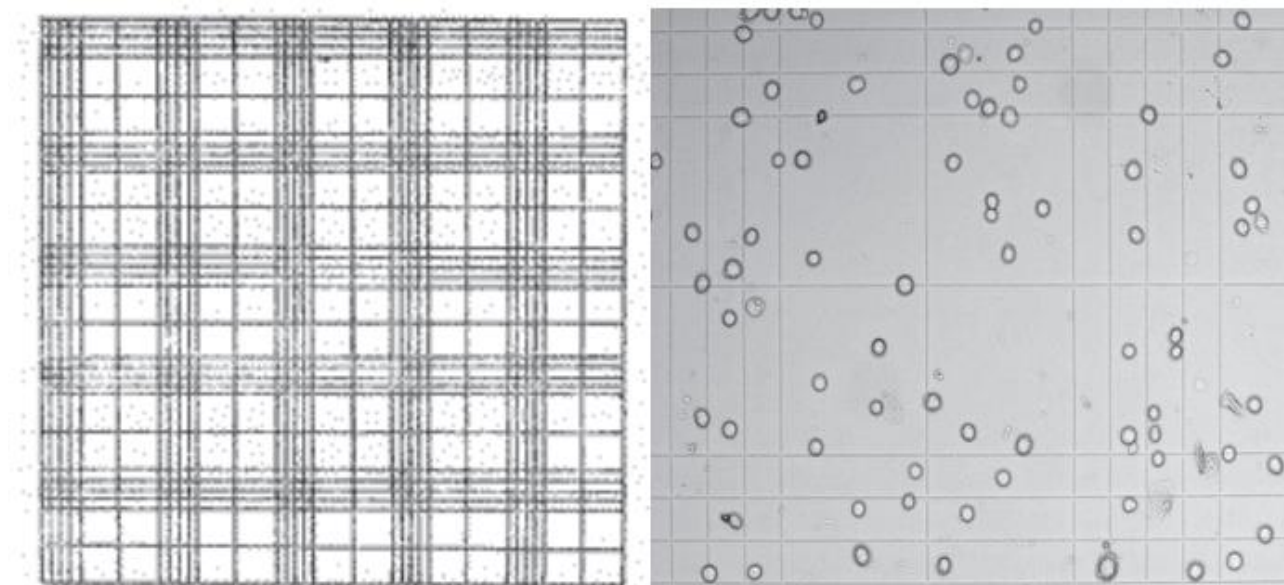


Рис. 1. Підрахунок клітин у камері Горяєва.

При підрахунку кількість клітин у великому квадраті не повинна перевищувати 20, а в малому — 10, в іншому випадку вихідну суспензію розводять водопровідною водою. Для отримання достовірного результату

загальне число підрахованих клітин мікроорганізмів повинно бути не менше 600. Підрахунок клітин повторяють 3–4 рази, кожен раз заново заповнюючи її камеру суспензією мікроорганізмів. Це забезпечує більшу точність, ніж підрахунок 600 клітин при одноразовому підрахунку.

Кількість клітин в 1 мл досліджуваної суспензії розраховують за формулою:

$$M = \frac{A \cdot 10^3}{hS} n,$$

де М — число клітин в 1 мл суспензії;

А — середнє число клітин в 1 квадраті сітки;

Н — висота камери;

С — площа 1 квадрата сітки, мм² ;

10³ — коефіцієнт переводу кубічних сантиметрів в кубічні міліметри;

N — розведення досліджуваної суспензії.

Лабораторна робота № 9

Призначення, технічні характеристики, будова і принцип роботи газорідинного хроматографа

Мета роботи: ознайомлення із застосуванням методів хроматографічного аналізу в екобіотехнології.

Завдання: оволодіти принципами та основними поняттями газової та рідинної хроматографії.

Хроматографія (від гр. *chromatos* — колір) — фізико-хімічний метод розділення та аналізу сумішей, оснований на розподілі їх компонентів між двома фазами — нерухомою та рухомою. Відкриття цього методу належить М. С. Цвету, який уперше застосував у 1903 р. проявний варіант рідинно-адсорбційної хроматографії для аналізу хлорофілу. Цей історичний дослід було проведено вченим наступним чином. У трубку з порошком крейди Цвет залив розчин рослинних пігментів хлорофілу — у верхній частині утворилося пофарбоване кільце. Потім у трубку безперервно подавався бензол, при цьому пігменти кільця частково розчинялися в ньому, опускалися, адсорбувалися іншими часточками крейди, знову розчинялися в нових порціях бензолу та опускалися по трубці. Оскільки різні речовини по-різному вивільнялися бензолом з адсорбенту, тому опускалися по трубці з різною швидкістю. Так, первинне зелене кільце, опускаючись, поступово розширювалося й поділялося на декілька по-різному забарвлених кілець. В сумі цих кілець виявилось шість: верхнє — жовте, потім оливково-зелене, далі темно-зелене й три жовті. Цвет назвав свій метод хроматографією, тобто «кольоровим письмом», а одержаний

у такий спосіб пошарово зафарбований стовпчик сорбенту — хроматограмою. Вчений витягнув шар-стовпчик сорбенту з трубки, розрізав його на циліндрики, у кожному з яких виявилось своє кольорове кільце, та вивільнив речовини з адсорбенту спиртом. У результаті Цвет показав, що хлорофіл — це не індивідуальна сполука, а суміш двох речовин, які розділилися на колонці з утворенням оливково-зеленого й темно-зеленого кілець. Вчений дослідив також, що за допомогою цього способу можна розділяти й безбарвні речовини.

Класифікація видів хроматографії:

1. За агрегатним станом фаз хроматографія буває:

- газова;
- газорідинна;
- газо-адсорбційна (твердофазна);
- рідинна;
- рідинно-рідинна;
- рідинно-твердофазна;
- рідинно-гелева;
- надкритична флюїдна.

2. За механізмом взаємодії:

- розподільна;
- йонообмінна;
- адсорбційна;
- ексклюзійна;
- гель-хроматографія;
- осадова;
- адсорбційно-комплексоутворююча хроматографія.

3. Окремі види хроматографії:

- високоефективна рідинна;
- тонкошарова;
- газова хроматографія з програмуванням температури;
- газова хроматографія з програмуванням витрати газу-носія;
- хроматографія з програмуванням тиску газу-носія;
- хромабарографія;
- хроматермографія;
- хроматофокусування;
- лігандообмінна;
- афінна хроматографія.

4. За способом введення проби:

— проявна або елюентна хроматографія. Аналізовану суміш вводять порціями в колонку, заповнену сорбентом. У потоці рухомої фази проба переміщується вздовж колонки. Швидкість переміщення окремих компонентів суміші обернено пропорційна величині їх констант розподілення. В результаті одержують хроматограму проявної хроматографії (рис. 2).

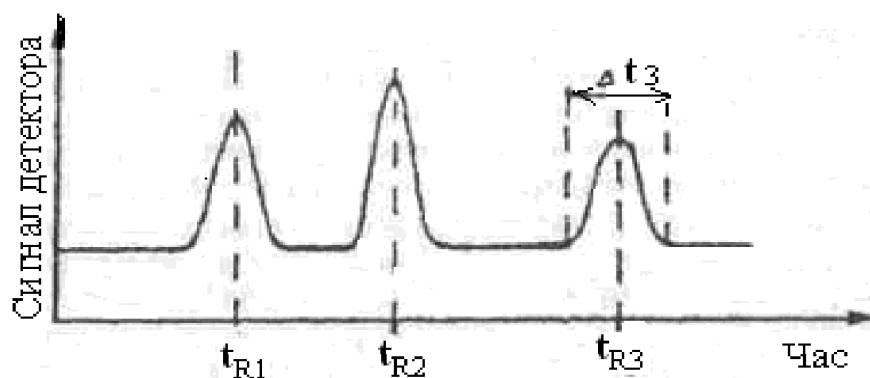


Рис. 2. Проявна хроматографія. Піки на хроматограмі відповідають компонентам суміші, що була введена в хроматограф

– фронтальна хроматографія. Суміш безперервно подається у шар сорбенту і, фактично, відіграє роль рухомої фази. Одержуємо залежність концентрації компонентів проби від часу (рис. 3). Відносний рух та розташування „сходинок” на осі часу визначаються величинами відповідних констант розподілу компонентів суміші. Висота „сходинок” пропорційна концентрації відповідного компонента в суміші.

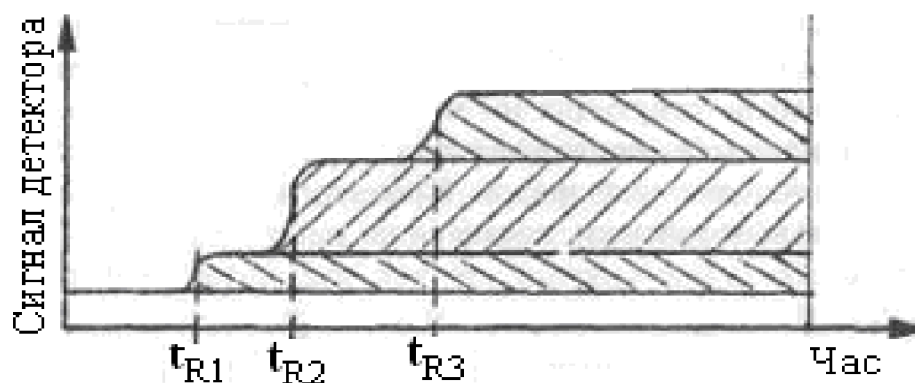


Рис. 3. Хроматограма фронтальної хроматографії

– витискувальна хроматографія. Переміщення хроматографічних зон досягається шляхом витискування компонентів суміші, що розділяється, речовиною з більшою здатністю до сорбції, ніж кожен з цих компонентів. Кожен з компонентів проби витісняє компоненти, які виявляють меншу взаємодію з нерухомою фазою. Утворюються зони розділених речовин, що примикають одна до одної. Хроматограму витискувальної хроматографії наведено на рис. 4.

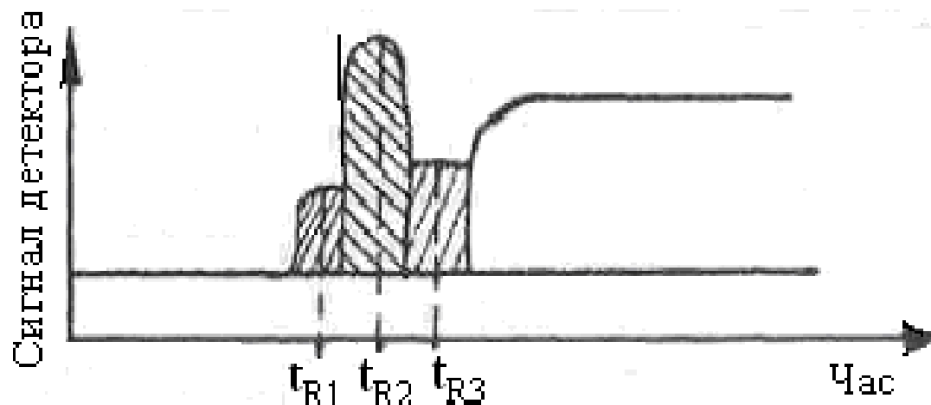


Рис. 4. Хроматограма витискувальної хроматографії

5. За метою проведення:

- аналітична — призначена для визначення якісного і кількісного складу досліджуваних сумішей;
- неаналітична — дослідження фізико-хімічних характеристик речовин з використанням хроматографічної апаратури та на основі параметрів хроматографічних зон;
- препаративна — застосовується для виділення невеликих кількостей індивідуальних компонентів із суміші в чистому виді у лабораторних умовах;
- промислова хроматографія — використовується для одержання чистих речовин у значних кількостях.

Площинна та колоночна хроматографія. Площинна хроматографія відбувається на плоскій поверхні. До неї відноситься паперова та тонкошарова хроматографія. Колоночна хроматографія відбувається в колонках. Колонки для газової та рідинної хроматографії відрізняються за конструкцією.

Основні терміни й поняття в хроматографії. Основні терміни й поняття в хроматографії були систематизовані й уніфіковані спеціальною комісією ІЮПАК (Міжнародний союз теоретичної та прикладної хімії — International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) — міжнародна неурядова організація, що сприяє прогресу в області хімії. Згідно з рекомендаціями ІЮПАК, термін «хроматографія» має три визначення та використовується для позначення спеціального розділу хімії.

Хроматографія — наука про міжмолекулярну взаємодію та перенесення молекул або часток речовини у системах, що не змішуються і рухаються одна відносно одної (рухома і нерухома фази).

Хроматографія — процес диференційованого багаторазового перерозподілу речовин або їх часток між рухомою і нерухомою фазами, що призводить до виділення та концентрації зон індивідуальних компонентів вихідної суміші.

Хроматографія — метод розділення суміші речовин, оснований на різниці у швидкості переміщення окремих компонентів у системі фаз, що не змішуються і рухаються одна відносно одної.

Сорбент — тверда речовина, рідина або їх суміш, здатна поглинати або втримувати гази, пари або розчинені речовини, що використовуються в хроматографії як нерухома фаза.

Сорбат — компоненти суміші, що розподіляються між нерухомою і рухомою фазами.

Адсорбент — твердий сорбент, що концентрує на своїй поверхні гази, пари або розчинені речовини. Адсорбентом заповнена хроматографічна колонка, у якій відбувається розділення суміші речовин на окремі компоненти.

Перепад тиску — різниця між тиском на вході та виході з колонки. Позначається символом p .

Елюат — розчин, що виходить із хроматографічної колонки.

Елюент — розчинник або суміш розчинників, або газ-носій, призначені для прокачування аналізованої суміші через хроматографічну колонку (рухома фаза).

Елюція — переміщення компонентів проби по хроматографічній колонці та їх розділення на ряд зон під впливом потоку рухомої фази.

Нерухома фаза — рідина або тверді частинки, якими заповнюють хроматографічну колонку.

Селективність — вибірковість.

Принцип хроматографічного розділення. Розділення речовини зустрічається при кожному хімічному синтезі. Якщо окремі компоненти суміші перебувають у різних фазах, то їх розділення проводиться досить легко — методами фільтрації, осадження, центрифугування тощо. Навпаки, якщо декілька речовин перебувають в одній фазі, тобто мало відрізняються за властивостями (наприклад, розчинністю, адсорбцією або розміром молекул), то в цьому випадку розділення можна досягти шляхом багаторазового повторення елементарного акту розподілу: видаленням молекул, які виходять з нерухомої фази, що здійснюється завдяки постійному руху рухомої фази. Цільове призначення хроматографії — кількісне розділення та ідентифікація компонентів складної суміші. Характерною особливістю хроматографічних методів є розподіл розділювальних речовин між двома фазами, які не змішуються, що призводить до розділення компонентів суміші. При цьому одна фаза може бути твердою, а інша — газоподібною або рідкою; обидві фази можуть бути рідкими і поміщені на який-небудь носій. Речовини, що містяться в суміші, під час хроматографічного розподілу переходять з однієї фази в іншу. Процес хроматографічного розділення суміші речовин полягає в різному розподілі кожного компоненту даної суміші між двома фазами, з наступним повним розділенням суміші шляхом застосування операції вимивання або витиснення компонента, що виділяється. Причиною такого розділення є відмінності у взаємодії кожного з компонентів даної суміші речовин, що перебувають у першій фазі (розчинник), із другою фазою — сорбентом (твердим або рідким), поміщеним на носії. Для пояснення явищ, що відбуваються під час хроматографії, розрахунків довжини колонок, положення і форми піків, вибору оптимальних умов процесів існує два підходи — теорія теоретичних тарілок (ТТТ) і кінетична теорія. Згідно ТТТ, хроматографічну

колонку можна уявити у вигляді ряду вузьких дотичних шарів, що називаються теоретичними тарілками. Мартін і Сіндж показали, що висота, еквівалентна теоретичній тарілці, заповненої колонки може досягати 0,002 см. Таким чином, колонка довжиною 10 см може вміщувати порядку 5000 тарілок. Високої ефективності розподілу можна чекати навіть від порівняно коротких колонок. Припускають, що в кожній такій тарілці встановлюється рівновага між рухомою і нерухомою фазами. Чим більше таких рівноваг, тим ефективніше розділення. Для оцінки ефективності колонки використовують поняття висоти теоретичної тарілки. Молекули речовини проходячи через колонку внаслідок хаотичного руху багато разів випадково стикаються між собою, тому одні молекули можуть просуватися швидше, ніж інші. На просування молекул через колонку впливає ряд факторів, що визначають ефективність хроматографічної колонки: 1) структура нерухомої фази (розміри гранул, їх однорідність, щільність і рівномірність заповнення колонки); 2) швидкість встановлення рівноваги сорбція-десорбція (масообмін); 3) дифузія молекул із зони з більшою концентрацією у зону з меншою концентрацією.

Принцип дії рідинного хроматографа. Суміш, що аналізується в розчині, за допомогою газового шприца, мікрошприца або мікродозатора вводиться в верхню частину хроматографічної колонки. За допомогою насоса суміш прокачується елюентом через хроматографічну колонку (рис. 5), в якій проходить розділення суміші на окремі компоненти. Елюат, що витікає з колонки, містить окремі компоненти суміші, які подаються на детектор. Покази детектора реєструються регістратором. У якості детектора у рідинному хроматографі використовується проточний рефрактометр, що включається за диференціальною схемою, або детектор поглинання в ультрафіолетовій області. Подачу рухомої фази розчинника здійснюють при використанні систем, що створюють тиск до 50 Мн/м². Проба вводиться за допомогою мікрошприца або крана. Хроматографічна колонка у рідинному хроматографі має довжину не більше 1 м. Порівняно з детекторами газових хроматографів детектори рідинних хроматографів мають суттєво меншу чутливість (приблизно на 2 порядки).

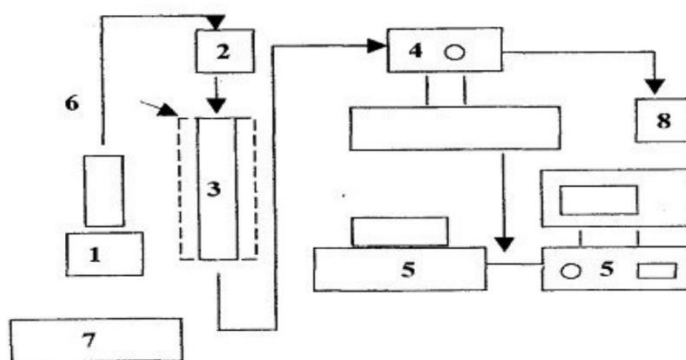


Рис. 5. Схема рідинного хроматографа: 1 – насос; 2 – вузол для введення проби; 3 – хроматографічна колонка; 4 – детектор; 5 – реєстратор (самописець або комп'ютер); 6 – термостат колонок; 7 – вузол підготовки елюенту з ємностями для елюенту; 8 – злив елюата або колектор фракцій.

Щоб точно виміряти концентрацію компоненту, детектори калібрують сумішами відомого складу. Для градування приладу готують штучну суміш метанолу та етилового спирту. Знімають хроматограму цієї суміші і вираховують площу піків (S) метанолу та етилового спирту в мм^2 за формулою:

$$S = h \times b \times M$$

де h — висота піка, мм ;

b — ширина піка, мм ;

M — масштаб запису сигналу піка.

За коефіцієнт градування приймають середнє арифметичне значення п'яти паралельних визначень.

Режим роботи рідинного хроматографа:

- температура колонки в термостаті $70\text{--}80\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- температура випаровувача $120\text{--}130\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- витрата нітрогену $0,9\text{--}1,5\text{ дм}^3/\text{год}$;
- об'єм проби для введення $0,003\text{--}0,006\text{ мл}$.

Ширину піка визначають на половині його висоти (рис. 6).

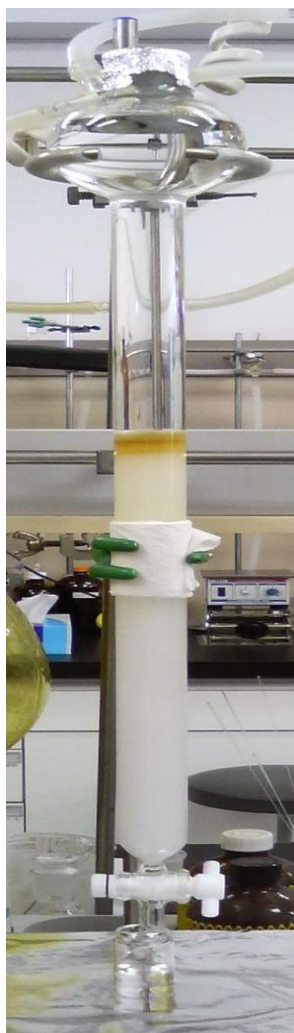


Рис. 6. Типова установка для колоночної хроматографії

Принцип дії газового хроматографа. Хроматографію проводять у газовому хроматографі, принципову схему роботи якого наведено на рис. 7. Потік газу-носія з балона 1 через регулятори витрат і тиску 2 безупинно й у регульованій кількості подається через випарник у хроматографічну колонку з термостатом 4 у детектор 5. Пробу для аналізу за допомогою спеціального обладнання (шприців-дозаторів, пробовідбірних кранів) подають у систему введення 3, звідки вона переноситься потоком газу-носія безпосередньо в колонку. При проходженні отриманої газової суміші уздовж сорбенту в колонці відбувається розділення суміші на компоненти. З колонки газ-носії несе в певній послідовності розділені компоненти до детектора. Електричний сигнал

від детектора через перетворювач сигналів 6 реєструється в записуючому обладнанні 7 у вигляді хроматограми.

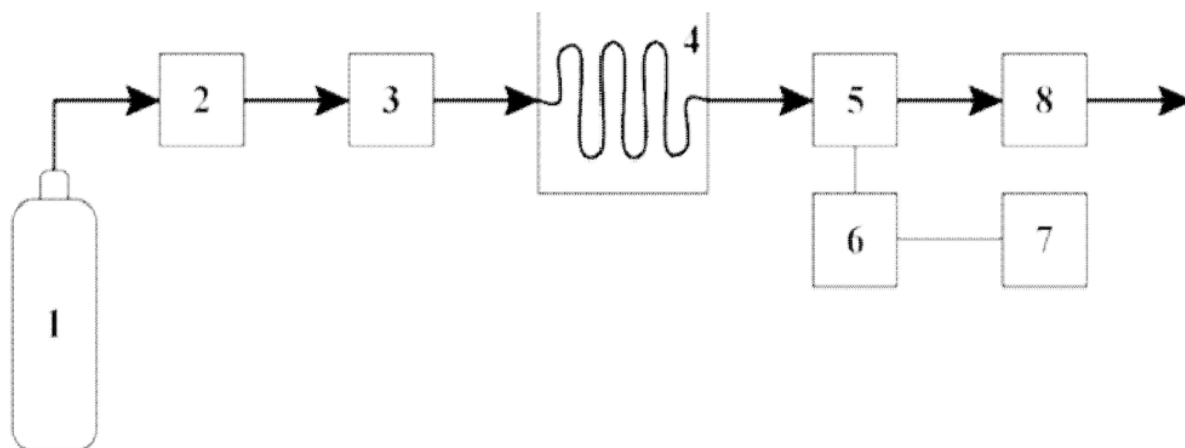


Рис. 7. Принципова схема газового хроматографа: 1 – джерело газу-носія (рухома фаза); 2 – регулятор витрати газу-носія; 3 – пристрій для введення проби; 4 – хроматографічна колонка в термостаті; 5 – детектор; 6 – електронний підсилювач; 7 – реєструючий пристрій (самописець, комп'ютер); 8 – пристрій для вимірювання витрати газу.

Таким чином, основними системами будь-якого газового хроматографа є колонка і детектор. Хроматографічна колонка розділяє, а детектор кількісно визначає компоненти газової суміші, що проходять через неї. Детектори поділяють на диференційні й інтегральні. Диференційні детектори реєструють зміни теплопровідності газу, інтегральні — підсумовують зміни за певний час. Термокондуктометричні детектори, які вимірюють теплопровідність називаються катарометрами. У катарометрі чутливим елементом є вольфрамова нитка, що нагрівається постійним струмом. Газ-носіє, безперервно протікаючи над нею, відводить тепло з постійною швидкістю. Якщо в газовій суміші над нагрітою ниткою з'являються молекули аналізованої речовини, то швидкість відводу тепла, температура та електричний опір нитки змінюються. Зміна електричного опору нитки пропорційна концентрації компонента в газовій суміші. Різниця в показках до і після проходження якого-небудь компонента реєструється електричною схемою. Цей детектор практично універсальний та дозволяє визначити концентрацію речовини в межах 0,1–0,01 %. Принцип роботи детектора по теплопровідності або катарометра оснований на процесі передачі тепла від нагрітого чутливого елемента до більш холодного корпусу детектора за рахунок теплопровідності газового потоку. Зі зміною складу газового потоку змінюється його теплопровідність, тобто кількість тепла, що поступає на чутливий елемент. Це, у свою чергу, призводить до зміни температури, а, отже, і електричного опору чутливого елемента. Головною частиною йонізаційних детекторів є йонізаційна камера, де відбувається йонізація молекул, що потрапляють у неї з потоком газу-носія із хроматографічної колонки. Йонізацію досліджуваних речовин здійснюють у полум'ї водню, атомами аргону або гелію, повільними електронами. Йони під

впливом напруги переміщуються в йонізаційній камері, що призводить до виникнення електричного струму. Детектор електронного захоплення є селективним детектором, що найчастіше використовується в газовій хроматографії та з метою визначення сполук, які володіють більшою спорідненістю до електронів. В основі полум'яно-йонізаційних детекторів лежить залежність електричної провідності йонізованого газу від його складу. Сигналом детектора є зміна йонного потоку, спричинена введенням у детектор аналізованої речовини. Газ-носіє у суміші з аналізованими компонентами та воднем подається у форсунку пальника, де відбувається йонізація.

Детектор являє собою камеру, у якій підтримується полум'я, що є джерелом йонізації. У камеру вводяться необхідні для підтримки полум'я водень і повітря. Інфрачервоні детектори. Інфрачервона спектроскопія широко застосовується в хімічному аналізі у комбінації з газовою хроматографією. Отриманий інфрачервоний спектр поглинання можна розглядати як індивідуальну характеристику тої чи іншої сполуки й використовувати для її ідентифікації.

Джерело газу-носія — це балон із стислим або зрідженим газом, що перебуває під тиском до 120 атм. Найчастіше при хроматографії використовують гелій, нітроген, гідроген та інші гази. Балони прийнято маркувати певним кольором залежно від газу, яким вони наповнені (табл. 8).

Таблиця 8

Маркування балонів із газом

Газ	Колір балона	Колір напису газу
Азот	Чорний	Жовтий
Водень	Темно-зелений	Червоний
Гелій	Коричневий	Білий
Аргон (техн.)	Чорний	Синій
Аргон (чистий)	Сірий	Зелений
Кисень	Блакитний	Чорний
Горючі гази	Червоний	Білий

Лабораторна робота № 10

Вимірювання параметрів і розрахунок хроматограм при роботі на газорідинному хроматографі

Мета роботи: ознайомити здобувачів із роботою хроматографічного обладнання та обробкою отриманих результатів.

Завдання: оволодіти методами розрахунку хроматограм при роботі на хроматографі.

Ефективність і селективність хроматографічної колонки

Хроматографія — це метод розподілення компонентів суміші, оснований на відмінності їх розподілу між двома фазами, що не змішуються, одна з яких нерухома, а друга — рухома. Компоненти зразка рухаються по колонці, якщо перебувають у рухомій фазі, і залишаються на місці, якщо знаходяться у нерухомій фазі. Чим більша спорідненість компоненту до нерухомої фази і чим менше — до рухомої, тим повільніше він рухається по колонці й тим довше в ній утримується. За рахунок відмінності у спорідненості компонентів суміші до нерухомої та рухомої фаз досягається основна мета хроматографії — розділення суміші за певний проміжок часу на окремі смуги (піки) компонентів у міру їх просування по колонці з рухомою фазою. Отже, хроматографічний розподіл можливий лише за умови, якщо компоненти зразка в колонці, по-перше, будуть розчинні в рухомій фазі та, по-друге, будуть взаємодіяти (утримуватися) з нерухомою фазою. Якщо при введенні проби компонент суміші не розчиняється, то буде відфільтрований і не братиме участі у хроматографічному процесі. Компоненти суміші, що не взаємодіють з нерухомою фазою, також пройдуть через колонку не розділяючись на окремі фракції. Наприклад, за умови, якщо два компоненти суміші розчинні в рухомій фазі і взаємодіють із нерухомою фазою, хроматографічний процес може протікати без порушень. У цьому випадку після проходження суміші через колонку можна одержати хроматограму виду а, б або в (рис. 8).

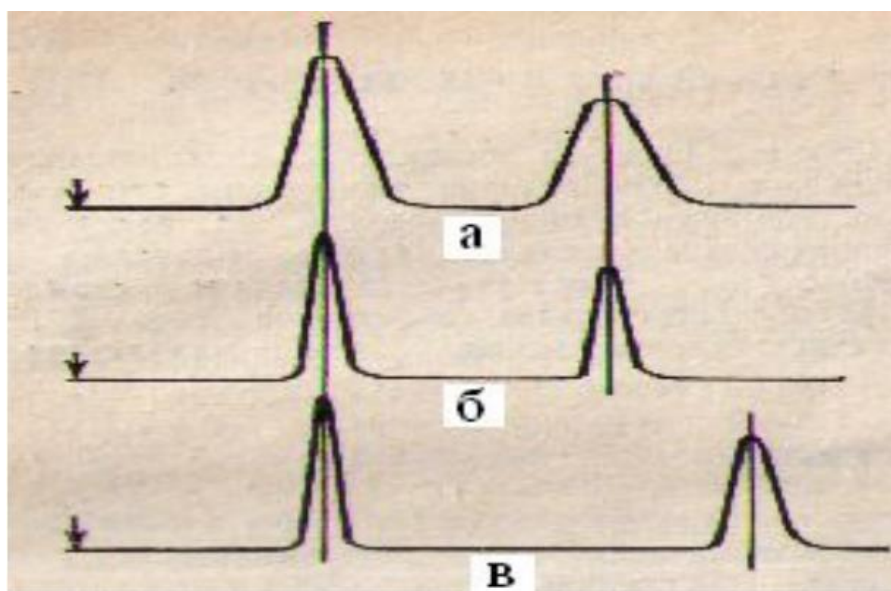


Рис. 8. Вид хроматограми залежно від ефективності і селективності колонки: а — звичайна селективність, знижена ефективність (менше теоретичних тарілок); б — звичайні селективність і ефективність; в — звичайна ефективність, підвищена селективність (більше відношення часу утримання компонентів)

Ефективність колонки тим вища, чим вузчий пік виходить за той же проміжок часу утримання. На рис. 8 проілюстровано хроматографічні розділення, що відрізняються ефективністю (а та б) при рівній селективності та селективністю (б і в) — при однаковій ефективності.

Кількість теоретичних тарілок характеризує кількість шаблів встановлення рівноваги між рухомою і нерухомою фазами. Якщо ефективність колонки вимірюється числом теоретичних тарілок (ЧТТ) — N , то чим більше ЧТТ, тим вища ефективність, тим менше розширення піка по мірі проходження суміші через колонку, тим вузчий пік на виході з колонки. Знаючи число теоретичних тарілок колонки N і довжину колонки L (мкм), а також середній діаметр зерна сорбенту d_c (мкм), легко одержати значення висоти, що еквівалентна теоретичній тарілці (BETT), а також приведеній висоті, еквівалентній теоретичній тарілці (PBETT):

$$\text{BETT} = L/N$$

$$\text{PBETT} = \text{BETT}/d_c$$

Маючи значення ЧТТ, BETT і PBETT, можна легко порівнювати ефективність колонок різних типів, різної довжини, заповнених різними за природою і зернистістю сорбентами. Аналізуючи ЧТТ двох колонок однієї довжини, порівнюють їх ефективність. При порівнянні BETT порівнюють стовпчики із сорбентами однакової зернистості, що мають різну довжину. Величина PBETT дозволяє для двох будь-яких колонок оцінити якість сорбенту та якість заповнення колонок, незалежно від довжини колонки, зернистості сорбенту, його природи.

Важливу роль у досягненні хроматографічного розділення відіграє селективність колонки, характеристика якої залежить від багатьох факторів: хімічної природи обраного сорбенту, складу розчинника, його модифікаторів з урахуванням хімічної структури і властивостей розділювальних компонентів. Іноді помітний вплив на селективність виявляє зміна температури колонки, що змінює коефіцієнти розподілу речовин між рухомою та нерухомою фазами.

При розгляді розділення двох компонентів на хроматограмі та і його оцінці важливим параметром є роздільна здатність колонки R_s , яка пов'язує час виходу і ширину піків обох розділювальних компонентів. Роздільна здатність колонки як параметр, що характеризує поділ піків, збільшується в міру зростання селективності й росту ефективності, через зменшення ширини піків.

Розмивання в колонці зменшиться, а ефективність колонки підвищиться, якщо використати більш дрібний сорбент, більш рівномірний за складом (вузька фракція), більш щільно і рівномірно упакований в колонку, при використанні більш тонких шарів прищепленої фази, менш в'язких розчинників і оптимальних швидкостей потоку.

Отже, високої ефективності розділення можна досягти лише завдяки частим фазовим переходам, тому нерухома й рухома фази повинні мати більшу поверхню зіткнення, а зовнішні умови обрані так, щоб молекули розділювальних речовин були здатні до швидкого обміну між двома фазами. Оскільки ефективність розділення знижується внаслідок дифузійних явищ, то

обидві фази повинні мати невелику товщину шару, а потік рухомої фази повинен бути ламінарним.

Ці вимоги задовольняються, наприклад, якщо рухома фаза протікає під дією перепаду тиску в хроматографічній колонці, наповненій тонко подрібненим сорбентом у якості нерухомої фази.

Суміш, що підлягає розділенню, подається в рухому фазу і разом з нею надходить у колонку, де кожен з компонентів розподіляється між рухомою фазою і сорбентом у певному співвідношенні. Дійсна рівновага між двома фазами буде тим меншою, чим більша швидкість рухомої фази. Так як компоненти суміші, поглинуті в цей момент сорбентом, не беруть участі у русі рухомої фази, то кожному з них для проходження колонки потрібно більше часу, ніж для кожної з молекул рухомої фази. Розділення суміші досягається, якщо її компоненти мають різні коефіцієнти розподілу між обома фазами, тобто якщо нерухома фаза різним чином перешкоджає їх проходженню через колонку.

Хроматографія застосовується з багатьма методичними змінами, які мають одну загальну основу: розділення відбувається внаслідок частого переходу молекул окремих компонентів суміші між двома фазами, з яких одна є нерухомою з розвинутою поверхнею, а друга фаза (рухома) переміщується щодо неї. Завдяки різному розподілу розділювальних речовин між нерухомою та рухомою фазами вони мають різний час утримання в колонці.

Рухома й нерухома фази можуть бути утворені різними речовинами. Залежно від їх властивостей і виду впливу на компоненти суміші розрізняють різні види хроматографії. Рухома фаза повинна утворюватися тільки речовинами малої в'язкості — газами або рідинами з малою в'язкістю. Хроматографія з газоподібною або рідкою рухомою фазами має зовсім різне експериментальне оформлення й відрізняється за елементарними процесами. У зв'язку з цією обставиною Десті (1957 р.) запропонував класифікацію хроматографії лише на основі агрегатного стану обох фаз. Чітко розмежувати окремі види хроматографії неможливо.

Хроматографічна система та представлення результатів хроматографії. Хроматографічна система складається із хроматографа, детектора, пристрою, що реєструє піки окремих компонентів.

Деякі види хроматографічного аналізу здійснюються за допомогою приладів, які називаються хроматографами. Хроматографи використовують для аналізу та препаративного розділення суміші речовин.

Основним конструктивним елементом хроматографа є колонка, заповнена нерухомою фазою (сорбентом), через яку при відповідній температурі прокачується рухома фаза (елюент), змішана з досліджуваною сумішшю.

В хроматографічній колонці проходить розділення первинної багатокомпонентної суміші на ряд бінарних сумішей, які складаються з газу-носія (в газовій хроматографії) або рідини-носія (в рідинній хроматографії) та одного з компонентів суміші.

Прийнято вважати, що найбільша ефективність колонки досягається в тому випадку, коли швидкість проходження рухомої фази через шар сорбенту

приблизно дорівнює швидкості молекулярної дифузії в пори часток сорбенту. Коефіцієнт дифузії розчиненої речовини в рухомій фазі залежить від типу сорбенту та властивостей розчинника. Дифузія в колонці тим більша, чим менша в'язкість розчинника і чим менший розмір молекул розчиненої речовини.

Для газової хроматографії використовуються U-подібні або закручені в спіраль трубки, виготовлені із нержавіючої сталі, міді, іноді фторопласту. Внутрішній діаметр колонки газового хроматографа може бути від 2 до 15 мм, а довжина 1–50 м. Колонку наповнюють нерухомою фазою (сорбентом) і за допомогою спеціальних термостатів підтримують задану температуру до 50 °C (з точністю до 0,05–1 °C) протягом усього процесу хроматографії. Нерухома фаза (сорбент) виконує функцію поділу суміші на індивідуальні компоненти, рухома фаза рухається всередині колонки за рахунок перепаду тиску.

Селективність (здатність до розділення) колонки залежить від характеру взаємодії окремих компонентів суміші з нерухомою фазою. Така взаємодія може бути неполярною (за рахунок сил Ван-дер-Ваальса) або специфічною полярною.

Сили Ван-дер-Ваальса — це сили електростатичної взаємодії молекулярних оболонок. Вони відповідають за міжмолекулярну взаємодію між всіма видами молекул і виникають у результаті фундаментального розподілу між позитивними зарядами ядра атома (протонами) та негативними зарядами (електронами), що розподілені по всьому простору, який займає молекула. Енергія таких сил досить незначна — від 0,419 до 4,19 кДж/моль.

При аналізі розділені в колонці хроматографа речовини разом з елюентом потрапляють через різні проміжки часу у встановлений на виході із хроматографічної колонки детектор — пристрій, що реєструє концентрацію і час виходу окремих компонентів з колонки.

Детектор — це обладнання, призначене для виявлення в потоці елюату, що виходить з колонки, індивідуальних компонентів за якими небудь фізико-хімічними властивостями. Зміну властивостей речовини детектор перетворює в електричний сигнал. Сигнал таких детекторів пропорційний миттєвій зміні значення якої-небудь властивості газового потоку, а його аналоговий запис має вигляд піка. Хроматограма представляє собою ряд піків, причому кількість кожного компонента пропорційно площі відповідного піка.

В рідинній хроматографії використовують оптичні детектори: абсорбційні 190–380 нм, 380–800 нм, інфрачервоні 800–5000 нм, рефрактометричні, емісійні, флуориметричні, хемолюмінісцентні.

Ультрафіолетовий детектор визначає залежність ступеня поглинання світла від концентрації проби в проточній кюветі.

Інфрачервоний — для ідентифікації природи органічних сполук, тому що більшість груп органічних речовин мають характеристичні спектри поглинання. Принцип дії рефрактометричного детектора оснований на диференціальній зміні показника заломлення чистого розчинника та аналізованого розчину.

Принцип дії флуориметричного детектора полягає на випромінюванні поглинання світла у вигляді флуоресценції. Поглинання звичайно проводять в

УФ-області при довжині хвилі максимального поглинання для даної групи речовин.

Отриману в результаті реєстрації детектором вихідну криву називають хроматограмою. Для якісного хроматографічного аналізу визначають час від моменту введення проби до часу виходу кожного компонента з елюенту. Кількісний аналіз базується на визначенні висоти та площі хроматографічних піків з урахуванням коефіцієнтів чутливості детектора до аналізованих речовин.

Відповідно до агрегатного стану рухомої фази розрізняють газові і рідинні хроматографи.

В результаті процесів, що проходять в детекторі, фіксується якісна та кількісна характеристика компонентів, які розділилися в колонці. Перетворені в електричний сигнал ці процеси записуються у вигляді кривої, яка називається хроматограмою. Залежність концентрації компонентів розділюваної суміші на виході з колонки від часу, що пройшов з початку розділення, виражається графічно хроматограмою, а концентраційні профілі компонентів на ній називають хроматографічними піками (рис. 9).

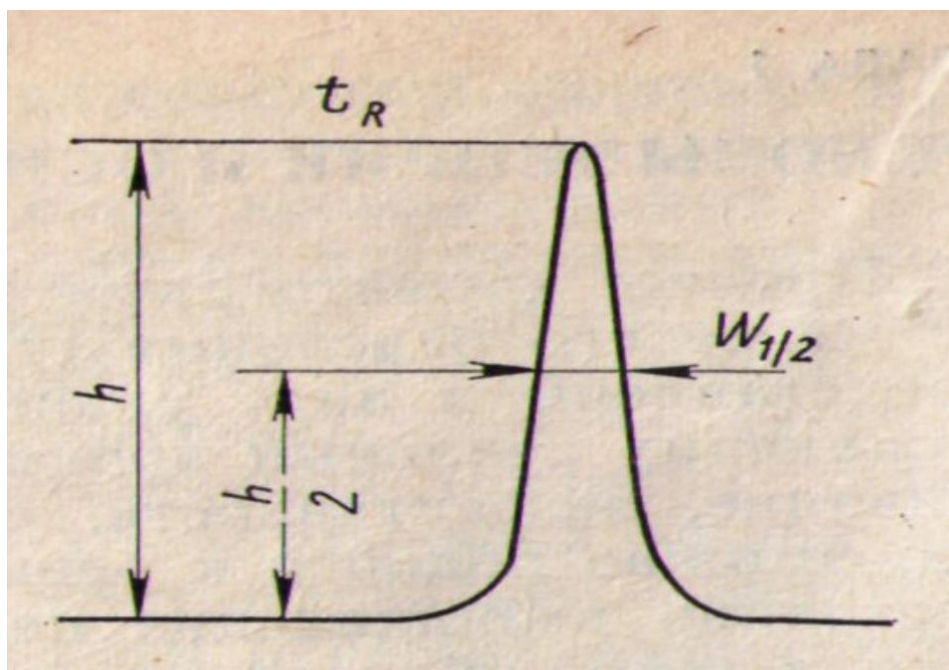


Рис. 9. Параметри хроматографічного піка: t_R – час утримання піка; h – висота піка; $W_{1/2}$ – ширина піка на половині його висоти

Профіль хроматографічної зони (форма піків) описується за допомогою математичної функції $y = f(x)$ розподілення Гауса (рис. 10), яка має вигляд дзвоноподібної кривої, схожої на симетричну хроматографічну зону.

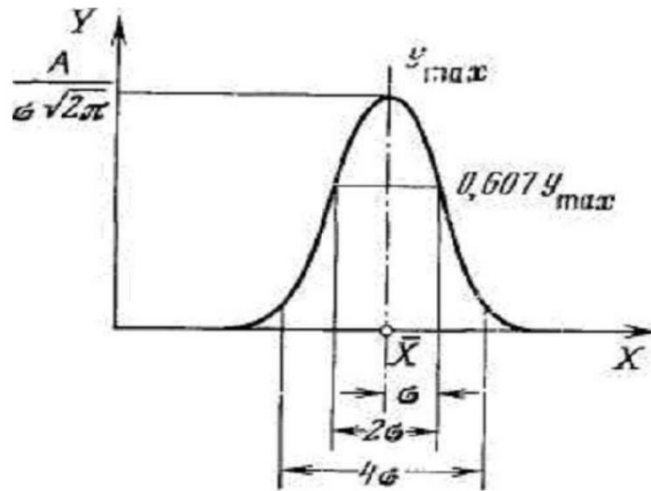


Рис. 10. Крива розподілення Гауса

З позицій кінетичної теорії припускається факт збігу форми хроматографічного піка з Гаусовою кривою. Якщо розділення у колонці відбулося, то кожному піку на хроматограмі відповідає одна індивідуальна речовина з суміші (рис. 11). Площа, обмежена піком і базовою лінією, є кількісним результатом вмісту даного компонента в суміші.

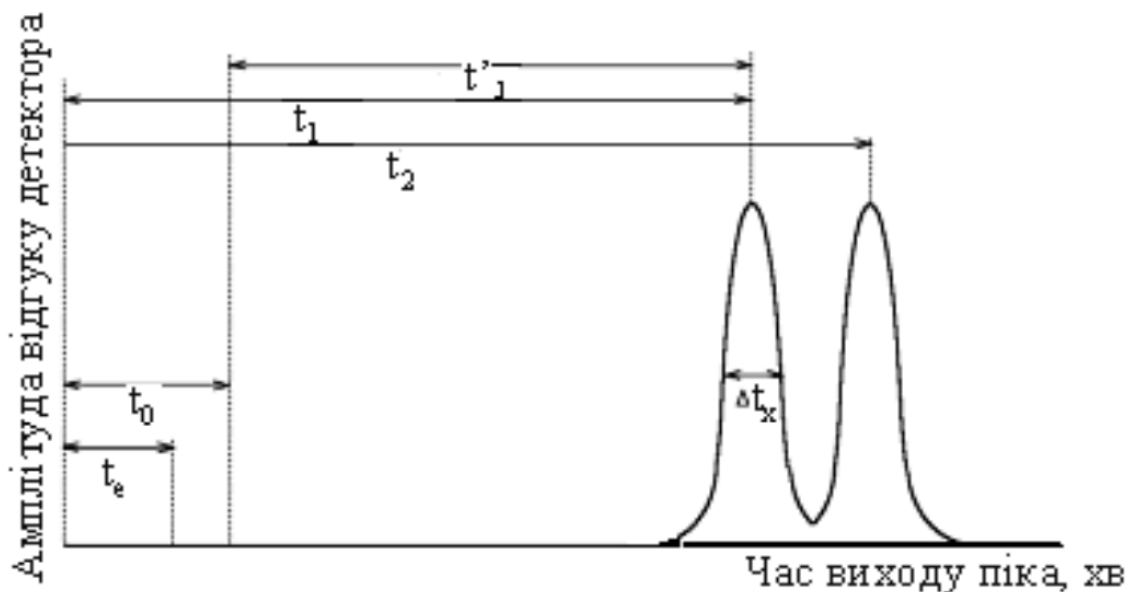


Рис. 11. Хроматограма розділення двокомпонентної суміші

Кожному піку на хроматограмі відповідає час, що пройшов від моменту початку розділення, до вершини піка, тобто до досягнення максимальної концентрації компонента на виході із колонки. Цей час називають часом утримання (на рис. 11 — t_1 , t_2) або часом перебування досліджуваної речовини в хроматографі. Час утримання складається із часу перебування речовини в рухомій (t_0) і нерухомій фазах (t_1). Час утримання визначають від моменту введення проби речовини в хроматограф до моменту реєстрації максимуму сигналу детектора.

Кожна речовина в одних хроматографічних умовах має свій час утримання $t_1 = t_0 + t_{\text{r}}$. Поряд із шириною і формою піка цей час є основною характеристикою, на підставі якої проводять ідентифікацію речовини на хроматограмі та оцінюють якість розділення. Добуток часу виходу на швидкість руху елюенту в колонці (u) дає ще одну важливу характеристику — об'єм утримування. Це той обсяг елюенту, який необхідний, щоб елюювати (вимити) даний компонент із колонки.

$$V_1 = t_1 \times u$$

Для одержання кількісних характеристик розділення, хроматограму обробляють, тобто проводять ряд вимірів і розрахунків. Для більшості таких розрахунків необхідна ще одна характеристика хроматографічної системи, а саме t_0 — час перебування молекул у рухомій фазі (мертвий час) та мертвий об'єм колонки — V_0 (об'єм елюенту, необхідний для заповнення пор сорбенту й простору між його частками в колонці). Враховуючи, що ця величина дорівнює утримуваному об'єму (відповідає часу утримання — t_0) несорбуючої речовини, на практиці її визначають, додаючи в розділювальну суміш маркери. Об'єм утримання маркера приймають за V_0 .

Відношення $t_{\text{r}}/t_{\text{M}}$ — характеризує взаємодію компонентів суміші і хроматографічної системи. Тому це відношення одержало назву відношення розподілу мас, або коефіцієнта розподілу:

$$k = (t_{\text{r}} - t_{\text{M}}) / t_{\text{M}}$$

Значення k може змінюватися від нуля до нескінченності.

Коефіцієнт масового розподілу (коефіцієнт ємності) D_{m} у хроматографії — це відношення кількості компонентів в нерухомій і рухомій фазах:

$$D_{\text{m}} = \frac{M_{\text{c}}}{M_{\text{e}}}$$

Коефіцієнт утримання — відношення швидкості руху речовини до швидкості руху рухомої фази. Цей параметр має значення для оцінки результатів хроматографії. Чим вище швидкість руху речовини, тим більше коефіцієнт утримання. Коефіцієнт утримання характеризує час знаходження речовини в рухомій фазі.

Лабораторна робота № 11

Визначення вмісту нітратів в овочевих культурах за допомогою йонселективних електродів

Мета роботи: закріпити теоретичні знання і набути навичок щодо визначення вмісту нітратів в овочевих культурах за допомогою йонселективних електродів.

Завдання: 1. Приготувати до роботи йономір та електроди. 2. Провести калібрування приладу для визначення вмісту нітратів. 3. Визначити вміст нітратів у зразках овочів, що досліджуються.

Нітрати — солі нітратної кислоти, які часто зустрічаються в навколишньому середовищі, головним чином у ґрунті та воді. NO₃ не поглинається ґрунтом, тому більшість нітратного нітрогену перебуває в ґрунтовому розчині, легко рухомий і доступний для рослин. Нітрати входять до складу добрив, а також є природними компонентами харчових продуктів рослинного походження. Для рослин нітрати не токсичні. У них вони накопичуються, коли поглинутий нітроген не повністю витрачається на синтез амінокислот і білків, тобто не всі нітрати відновлюються до аміаку. Концентрація нітратів у овочевих культурах залежить в основному від виду і сорту рослин, фази їх росту і розвитку вегетації, погодних умов у вегетаційний період, неконтрольованого використання азотних добрив. За ступенем накопичення цих сполук рослини розділяють на інтенсивно-акумулюючі нітрати (злакові культури, хрестоцвіті, складноцвіті) і ті, що не мають такої здатності. З метою збільшення урожайності культур у ґрунт вносять підвищену кількість нітрогеновмісних добрив. Це призводить до накопичення вмісту нітратів в рослинницькій продукції. Якщо овочі вирощені без додаткового внесення азотних добрив, вміст нітратів у них буде приблизно наступний (табл. 9):

Таблиця 9

Показники нітратів у товарній частині рослин, мг/кг сирової маси

Рослини	Вміст	Максимально допустимий рівень	Рослини	Вміст	Максимально допустимий рівень
Кавуни	40-600	60	Огірки	80-500	150
Баклажани	80-270	200	Перець солодкий	40-330	200
Дині	40-500	90	Салат	400-2960	2000
Капуста білокачанна	260-3000	500	Петрушка (зелень)	1700-2500	2000
Капуста салатна	1000-2700	2000	Буряк столовий	200-4500	1400
Кабачки	400-700	400	Селера	120-1500	2000
Картопля	40-980	250	Томати	10-180	150
Цибуля зелена	40-1400	600	Часник	40-300	60
Цибуля ріпчаста	500-900	80	Шпинат	600-4000	2000
Морква	160-2200	250	Щавель	240-4000	2000

Найбільш високу здатність накопичувати нітрати мають хрестоцвіті, гарбузові, амарантові, в'юнкові, пасльонові. Найменша кількість нітратів міститься в томатах. У молодих рослинах нітратів на 50–70% більше, ніж у зрілих. У вегетативних органах їх вміст зростає у напрямі до коріння. Наприклад, у листках білокачанної капусти нітратів на 60–70% менше, ніж у качані. У листах салату їх на 40–50% менше, ніж у листових черешках.

Допустима (безпечна) добова доза надходження нітратів до організму людини — 5 мг на 1 кг маси тіла. Дорослій людині масою 60–80 кг не повинно зашкодити здоров'ю близько 350 мг нітратів. За Держстандартом на питну воду, кожен літр її може містити до 45 мг нітратів.

Суть методу. Потенціометричний метод визначення нітратів у рослинницькій (овочевій) продукції базується на вилученні нітратів 1%-им розчином алюмокалієвих галунів з подальшим визначенням ЕРС. Як екстрагент (компонент, за допомогою якого вилучають нітрати із овочевих культур) використовують розчин алюмокалієвих галунів, який має велику йонну силу. Потенціал йонселективного електроду в розчині алюмокалієвого галуну швидко відновлюється. Вміст нітратів визначають безпосередньо у розчинах або суспензіях. Із хрестоцвітих рослин (капуста, редька, редиска) їх екстрагують розчином алюмокалієвих галунів, перманганату калію і сульфатної кислоти.

Увага: йонселективні електроди непридатні для визначення вмісту нітратів, якщо вміст хлоридів у пробі перевищений у 50 разів.

Обладнання, матеріали та реактиви:

- йономір (рН-метр),
- йонселективний нітратний електрод,
- електрод порівняння,
- 1%-ий розчин алюмокалієвого галуну,
- набір стандартних розчинів KNO_3 ,
- екстрагент для хрестоцвітих овочевих культур (10 г алюмокалієвого галуну розчиняють у воді в мірній колбі на 1 л, додають 1 г KMnO_4 і 0,6 мл концентрованої H_2SO_4 , об'єм доводять водою до риски).

Хід роботи:

1. Для виконання аналізу згідно з інструкцією приготувати до роботи йономір (рН-метр), йонселективний нітратний електрод та електрод порівняння.
2. Калібрування приладу для визначення вмісту нітратів провести за допомогою зразкових 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} М розчинів NO_3 відповідно 1, 2, 3, 4.
3. Сиру наважку 12,5 г подрібнених овочевих культур (картопля, морква, буряк, томати, огірки) перенести у гомогенізатор, додають 25 мл 1% розчину алюмокалієвих галунів і гомогенізувати 1 хв, а потім за допомогою скляної палички утворену масу перемішувати протягом 5 хв. У суспензії або фільтраті визначити вміст нітратів. Після кожного визначення нітратів електроди споліскують дистильованою водою.

Лабораторна робота № 12

Молочнокисле бродіння та його використання в екобіотехнологіях

Мета роботи: закріпити теоретичні знання і набути навичок щодо дослідження збудників молочнокислого бродіння, визначення продуктів бродіння.

Завдання: 1. Визначити кількість утвореної молочної кислоти в продукті. 2. Провести якісну реакцію на молочну кислоту. 3. Розглянути під мікроскопом молочнокислі бактерії. 4. Зробити відповідні висновки з практичної роботи.

Молочнокислі бактерії (*Streptococcus lactis*) (рис. 12) здійснюють найбільш розповсюджений у природі процес молочнокислого бродіння, який, завдяки консервуючій і стерилізуючій дії, що ґрунтується на підкисленні середовища до значення $\text{pH} < 5$ широко використовується в сільському та домашньому господарстві, у молочній промисловості.



Рис. 12. *Streptococcus lactis*. Збільшення 1500X

Їх представники мають такі основні властивості:

- утворюють молочну кислоту;
- позитивно фарбуються за Грамом;
- не утворюють спори;
- нерухливі;
- коки чи палички;
- вимогливі до джерела нітрогену;
- не утворюють каталазу;
- анаероби (мають бродильний тип метаболізму);
- аеротолерантні.

Зокрема, при виготовленні кисломолочних продуктів мають місце процеси, в яких бактерії розщеплюють вуглеводи молока з утворенням молочної кислоти та деяких інших речовин. Молочна кислота денатурує білок казеїн, в результаті чого він випадає в осад.

В залежності від виду молочнокислих бактерій, а також від властивостей вихідного матеріалу бродіння, одержують той чи інший продукт з характерним смаком, ароматом та іншими властивостями. При виробництві сиру тверді згустки, які складаються з білка та жирів, відокремлюють від сироватки і потім інокують різними видами молочнокислих бактерій та (або) мікроскопічними грибами. Деякі знамениті сорти сиру визрівають, набуваючи специфічних смакових властивостей, завдяки життєдіяльності різних видів *Penicillium*.

Молочнокислі бактерії застосовують також для приготування різноманітних маринадів, для сквашування овочів. При цьому рослинна сировина витримується у сольовому розчині, де під впливом спонтанної мікрофлори розпочинається молочнокисле бродіння. Наприклад, у дрібно посіченій, посоленій та добре спресованій капусті бродіння проходить за участю *Leuconostoc* (з утворенням CO_2), а потім *Lactobacillus plantarum*. У розсолі огірків розвивається огіркова паличка *Lactobacillus cucumeris*.

Молочнокислі бактерії, що мешкають на рослинах, відіграють основну роль при силосуванні кормів. Вони зброджують цукри рослин до молочної і частково оцтової кислот, знижуючи рН соковитих кормів до 4,2–4,0. Це призводить до пригнічення розвитку гнилісних та інших бактерій, що спричиняють псування кормів. Для силосування сировина повинна мати достатній вміст цукрів, тому інколи додатково додають мелясу. Важливо також створити анаеробні умови шляхом пересування кормів.

Недотримання умов силосування кормів, технології виготовлення та вимог до зберігання кисломолочних продуктів та сквашених овочів сприяє розвитку інших мікроорганізмів та пригніченню молочнокислих бактерій. За таких обставин у складі мікрофлори розсолів тощо можлива присутність дріжджів, дріжджоподібних грибів (*Oidium lactis* – молочна цвіль), гіфальних грибів, пропіоновокислих та оцтовокислих бактерій, бацил, мікрококів та ін.

Молочна цвіль окиснює молочну кислоту, яку продукують бактерії, до CO_2 та H_2O . При цьому знижується кислотність, що створює сприятливі умови для розвитку гнилісних бактерій.

Таким чином, показниками якості продуктів, які утворюються за участю молочнокислих бактерій, є наявність активної мікрофлори та молочної кислоти.

Обладнання, матеріали та реактиви:

- склянка,
- скляна паличка,
- молоко,
- NaOH,
- фенолфталеїн,
- реактив (5% розчин карболової кислоти і 5 % розчин хлорного заліза (III) (1:2)),
- кисле молоко,
- мікробіологічні петлі,
- предметні скельця,
- суміш спирту з етером (1:1),
- метиленовий синій,
- мікроскопи,
- імерсійне масло.

Хід роботи:

1. *Визначення кількості молочної кислоти.* У хімічну склянку налити 10 мл кисломолочного продукту і відтитрувати його 0,1 н NaOH у присутності фенолфталеїну до появи рожевого забарвлення. Визначити процентний вміст молочної кислоти та кислотність продукту в градусах Тернера ($^{\circ}\text{T}$). Обчислення проводити, враховуючи, що 1 мл 0,1 н NaOH відповідає 0,009 г молочної кислоти, а 1 мл 0,1 н NaOH, що йде на титрування 100 мл продукту, відповідає 1°T . Оцінити якість кисломолочного продукту (кислотність солодкого молока $15\text{--}18^{\circ}\text{T}$, кисломолочних продуктів $65\text{--}95^{\circ}\text{T}$).

Дослід на молочнокисле бродіння закласти у 2 широких пробірках, в які налити по 10 мл свіжого молока, закрити ватними корками і помістити в термостат при температурі 30°C на 4–5 днів.

На наступному занятті вміст однієї пробірки перелити в колбу на 100 мл (перемішуючи скляною паличкою і поступово ополіскуючи в 20 мл дист. води).

Додати 2–3 краплі фенолфталеїну і титрувати 0,1н розчином NaOH. Визначити градуси Тернера і кількість утвореної молочної кислоти. За різницею (мг) молочної кислоти в молоці до і після досліду розрахувати, яка її кількість утворилась при молочнокислому бродінні.

2. *Якісна реакція на молочну кислоту.* Для виявлення молочної кислоти використати реактив, який складається з суміші 5%-них розчинів карболової кислоти і хлорного заліза (1:2), розведених подвійною кількістю води. Він має аметистово-синій колір. В присутності молочної кислоти це забарвлення переходить в солом'яно-жовте за рахунок утворення молочнокислого заліза.

Реакцію проводять у фарфорових чашках, додаючи реактив до кількох крапель сироватки.

3. *Мікроскопування молочнокислих бактерій.* Для вивчення молочнокислих бактерій приготувати мазок з кислого молока. Набрати петлею згусток, розмазати по склі і висушити на повітрі. Мазок зафіксувати сумішшю спирту з етером (1:1), кілька разів наливаючи її на предметне скло. При такій фіксації мікроорганізми прилипають до скла, а жир розчиняється і вимивається з мазка. Після фіксації препарат зафарбувати метиленовою синькою (протягом 5 хв), розглянути в імерсійній системі і замалювати.

Лабораторна робота № 13

Біотестування залишкової токсичності рослин та аналіз компосту на загальну токсичність за допомогою насіння редису

Мета роботи: закріпити теоретичні знання і набути навичок щодо визначення токсичності компосту та залишкової токсичності рослин, які оброблялись добривами та пестицидами.

Завдання: 1. Визначити залишкову токсичність рослин, вирощених на ґрунтах, забруднених пестицидами, та токсичність компосту, отриманого в лабораторній роботі 13, методом біотестування. 2. Зробити висновки, щодо можливості використання досліджуваного компосту в сільському господарстві.

В останні роки проблема охорони довкілля від забруднення важкими металами привертає все більше уваги дослідників. Значний інтерес представляє вивчення процесів адаптації живих тварин до таких антропогенних факторів.

Амфібії, рептилії, риби є важливими компонентами біоценозів, чутливими до хімічного навантаження на складові екосистем. Біотестування передбачає можливість використання тест-об'єктів і тестреакції для оцінки рівня забруднення довкілля, здійснення постійного моніторингу за його якістю та змінами.

Типові тест-об'єкти і тест-реакції, що використовуються під час біотестування наведені в табл. 10.

Типові тест-об'єкти і тест-реакції, що використовуються під час біотестування

Тест-об'єкт	Тест-реакція
Бактерії <i>Bacillus cereus</i> <i>Beneckea harveyi</i>	Інтенсивність розмноження, біоломінесценція, активність окиснювальних ферментів, проникність мембрани, механічна міцність
Гриби й актиноміцети <i>Aspergillus niger</i> <i>Streptomyces olivaceus</i>	Реакція росту
Водорості <i>Scenedesmus quadricauda</i> <i>Sc. acuminates</i> <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Euglena gracilis</i> <i>Nitella jlexilis</i> <i>Dunaliella salina</i> <i>D. viridis</i> <i>Cladophora fracta</i>	Інтенсивність розмноження, рухова активність, іммобілізація клітин, біоелектричні реакції, фотосинтетична активність клітин, імпеданс суспензії, проникність мембрани, активний транспорт
Найпростіші <i>Tetrahymena pyroformus</i> <i>Spirostomon ambiguum</i> <i>Euplotes sp.</i>	Інтенсивність розмноження, рухова активність, морфологічні зміни тіла, інтенсивність дихання, активний транспорт
Безхребетні <i>Daphnia magna</i> <i>Hydra attenuate</i> <i>Hirudo medicinalis</i> <i>Unio tumidus</i>	Виживання, інтенсивність дихання та серцебиття, поведінкова реакція
Риби <i>Perca fluviatilis</i> <i>Phoxinus phoxinus</i> <i>Cyprinus carpio</i>	Поведінкова реакція, рухова активність, інтенсивність дихання та серцебиття, зміна пігментації шкіри

Особливе місце серед тест-об'єктів займають водорості, найпростіші та бактерії. Такі одноклітинні організми, як найпростіші та водорості, легко рахувати, вони є зручними в використанні тест-об'єктами.

Для виявлення важких металів, поверхнево активних речовин, пестицидів як тест-реакції використовують параметри фоторуху водоростей.

Найпростіших широко використовують як тест-об'єкти для біотестування важких металів, органічних сполук стічних вод.

Проте багатоклітинні організми також досить часто використовуються для біотестування. Наприклад, для встановлення гранично допустимої токсичності зворотних вод найбільш точною слід вважати методику визначення гострої летальної токсичності на ракоподібних.

Необхідність визначення показника фітотоксичності ґрунтів частіше виникає при проведенні моніторингу хімічного забруднення ґрунтів або під час оцінки можливостей використання різних відходів (компостів, осадів стічних вод або самих стічних вод) для меліорації або удобрення ґрунтів. Для цього використовують простий метод паростків, що полягає в дослідженні реакції тест-культури при внесенні в ґрунт добрив, меліорантів, забруднюючих речовин та ін. За цим методом в досліджуваному і контрольному (незабрудненому або без домішок) ґрунті пророщують насіння і фіксують енергію проростання, довжину надземної та кореневої систем рослин, маси сухої речовини у надземній та підземній частинах рослин та ін.

Бажано використовувати тест культури, що швидко проростають і є звичними для господарств даного регіону. Так для вивчення дерновопідзолистих ґрунтів використовують овес та горох; для степових ґрунтів — це можуть бути пшениця, люцерна, боби, квасоля. При цьому бажано використовувати азотфіксуючі (бобові) та не фіксуючі азот (злакові) рослини.

Однією з класичних тест-культур вважають огірок. Дослідження проводять при підтримці постійної вологості ґрунту (на рівні 70 % від повної вологості), яку перед дослідженням визначають стандартним методом: зважують сухий ґрунт і додають розрахований об'єм води, щоб досягти вологості 70 %; після першого зволоження ґрунт разом з дослідною посудиною зважують; потім періодично повторюють зважування, а втрату вологи компенсують додаванням певної кількості води.

Обладнання, матеріали та реактиви:

- чашки Петрі,
- фільтрувальний папір,
- вода дистильована,
- хімічний посуд,
- колби,
- качалка для колб,
- лінійка метрична,
- фільтрувальний папір,
- яблучне пюре,
- компост,
- рослинні рештки,
- тест-об'єкти (насіння рослин, дрозофіли).

Хід роботи

1. Біотестування залишкової токсичності рослин

Під час санітарно-ветеринарної експертизи як тест-об'єкт використовують комах. Як приклад, розглянемо біотестування залишкової токсичності рослин (залишків пестицидів) за допомогою тест-об'єкта плодової мухи (дрозофіли): вона добре розмножується на поживному середовищі, має короткий (9–12 діб) цикл розвитку, а також її культуру легко отримати в лабораторних умовах. Беруть рослини, що вирощувалися на обробленій пестицидами ділянці. Готують суміш із різних частин декількох рослин, розтирають до однорідної маси, до якої додають декілька грам яблучного пюре.

Виготовлена таким чином паста наноситься на дно та стінки циліндричних склянок (об'ємом 100 см³) по 10 г в кожну. Склянки ставлять догори дном на лист фільтрувального паперу (щоб запобігти герметизації) і підсаджують в них мух одноденного віку. Контролем служать мухи, що живуть в склянці з чистим (без рослинної маси) яблучним пюре. Через 1–2 доби рахують кількість загиблих комах (в відсотках від контролю).

Рівень залишкової токсичності досліджуваного рослинного матеріалу визначають наближено за п'ятибальною шкалою:

- 1 бал — рослини мають вкрай велику кількість пестицидів (всі дослідні комах гинуть менше, ніж за 24 години);
- 2 бали — рослини містять велику кількість пестицидів (гине 100 % комах за 24 години);
- 3 бали — рослини містять підвищену кількість пестицидів (гине 70 % комах за 24 години);
- 4 бали — рослини містять мало пестицидів (гине не більше 30 % комах за 24 години);
- 5 балів — рослини умовно вільні від пестицидів (кількість досліджуваних комах не відрізняється від контрольного досліді).

2. Біотестування загальної токсичності компосту

Для визначення загальної токсичності компосту проводять наступні дії:

1. Пробопідготовка: 10 г компосту вносять в колбу об'ємом 250 см³, додають 100 см³ дистильованої води. Колбу закривають пробкою і збовтують на качалці протягом 2 год при 60 коливаннях за хвилину. Отриману водну компостну витяжку фільтрують через складчасті фільтри в чисті колби. Для контролю використовують дистильовану воду.

2. Відбирають насіння, розподіляють рівномірно по 25 шт. на одну чашку Петрі, заливають 10 см³ компостної витяжки. Пророщують насіння протягом 72 годин при кімнатній (21–23 °С) температурі.

3. На основі отриманих результатів розраховують фітотоксичний ефект, що визначається у відсотках, на основі довжини пагона дослідних рослин та довжини пагона контрольних рослин за формулою:

$$\Phi E = \frac{M_0 - M_x}{M_0} \cdot 100\%$$

M_0 — ростові показники рослин у ємності з контролем; M_x — ростові показники рослин у ємності з досліджуваним ґрунтом.

Користуючись таблицею 11, визначають рівень токсичності ґрунту.

Таблиця 11

Шкала рівнів токсичності ґрунтів

Рівні пригнічення ростових процесів (фітотоксичний ефект), %	Рівень токсичності
0–20,0	Відсутність, або слабкий рівень токсичності
20,1–40,0	Середній рівень

40,1–60,0	Вище середнього рівня
60,1–80,0	Високий рівень
80,1–100,0	Максимальний рівень

Лабораторна робота № 14

Біотестування фітотоксичності речовин, що містяться у воді або ґрунті

Мета роботи: закріпити теоретичні знання і набути навичок щодо визначення фітотоксичних речовин, що містяться у воді та ґрунті.

Завдання: методом біотестування перевірити ступінь фітотоксичності речовин, що містяться у зразках води або ґрунту. Визначити зразки з максимальним та мінімальним рівнем біотоксичності.

Процеси урбанізації безжалісно поглинають потужні сільськогосподарські землі. Все більші території займаються під смітники, відвали, сховища, могильники. В даний час використовується усе більше і більше пестицидів, а вони — залишаються в ґрунті. На величезних площах зростає концентрація неорганічних іонів, у той час як концентрація органічних речовин (живильна основа ґрунту) — падає. Важким забруднювачем ґрунту є нафта і нафтопродукти. Природна ґрунтова мікрофлора здатна руйнувати такі забруднення, але природні сили ґрунту — дуже малі і не справляються з величезною кількістю забруднень.

При будь-якій серйозній спробі рекультивувати сильно забруднену землю, необхідним буде цілий ряд технологій, що включають використання штамів, отриманих методами генної інженерії, застосування полімерів, глибоку оранку й аерацію.

Рослини, через обмеженість руху, першими зазнають негативного впливу речовин, які потрапляють у ґрунт й можуть помітно реагувати на ці зміни, а тому саме їх найчастіше використовують в екологічній діагностиці стану навколишнього середовища як індикатори.

Обладнання, матеріали та реактиви:

- термостат;
- пінцет;
- леза;
- скляна воронка;
- фільтрувальний папір;
- пеніцилінові флакони;
- чашки Петрі;
- предметні скельця;
- піпетки на 5 мл;
- досліджувані зразки ґрунту;
- насіння пшениці елітного сорту;
- 2 % розчин цукрози.

Хід роботи:

Дана робота виконується за 3 етапи.

1 етап — отримання зразків біоіндекаторної тест-системи

1. Приготувати 200 мл 1 % розчину KMnO_4 .
2. Відібрати 50 зерен пшениці у 5 повторностях.
3. Обробити насіння у розчині KMnO_4 протягом 20 хвилин. Промити насіння проточною водою.
4. Розкласти пшеницю по 50 шт. на вологий фільтрувальний папір та поставити у термостат при температурі 25 °C на 3 доби.

2 етап — підготовка досліджуваних зразків до тестування

5. Відібрати проростки з довжиною колеоптилю — 2–3 см.
6. На предметному склі охайно відрізати самий кінчик колеоптилю (2 мм). За допомогою лінійки відрізати наступні 5 мм колеоптилю, в якому знаходиться зона розтягнення клітин та помістити його у чашку Петрі з дистильованою водою на 10 хв.
7. Приготувати 2% розчин цукрози.
8. Приготувати витяжки з ґрунту: 10 г розтертого зразку ґрунту залити 25 мл дистильованої води. Сильно збовтувати суспензію на протязі 10 хв. Дати суспензії відстоятись. Отриману витяжку з ґрунту профільтрувати.
9. Зробити серію розчинів витяжки з ґрунту методом послідовного розбавлення вихідного зразку в 2 рази.
10. У підготовлені серії розчинів: 1 – 0,5 – 0,25 в пеніцилінових флаконах (10 мл витяжки) помістити по 10 відрізків колеоптелів пшениці. Повторність кожного варіанту досліду — 3-х кратна. В якості контролю приймається показник розтягнення колеоптелів у дистильованій воді. Поставити флакони у термостат за температури 25 °C на 3 доби.

3 етап — визначення фітотоксичної дії витяжки з ґрунту

11. Виміряти довжину відрізків колеоптелів у кожному варіанті досліду.
12. Обробити отримані дані за формулою:

$$T = \frac{L_o}{L_k - L_o} \cdot 100\%,$$

де T — показник фітотоксичної дії зразку, %; L_o — довжина колеоптилю у дослідних зразках, мм; L_k — довжина колеоптилю у контролі, мм.

13. Результати обробити статистично.
14. За отриманими даними побудувати гістограму та зробити висновок.

Лабораторна робота № 15

Відбір проб повітря і аналіз забрудненості повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація)

Мета роботи: оволодіти методом відбору проб повітря та оцінки забрудненості повітря.

Завдання: провести відбір проб повітря та оцінити забрудненість повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація).

Аналіз забруднення повітряного середовища є чи не найскладнішим завданням аналітичної хімії, оскільки повітря є рухомою системою, склад якої постійно змінюється, а одна проба може одночасно містити десятки, сотні органічних і неорганічних сполук. Крім того, концентрація токсичних речовин в атмосфері може бути мізерно малою (10^{-4} – 10^{-7} % і нижче).

Для оцінювання забруднення повітря використовують лабораторні (характеризуються високою точністю і є незамінними для поглиблених досліджень); експресні (передбачають використання універсальних газоаналізаторів); автоматичні (забезпечують безперервний контроль забруднення атмосферного повітря) методи.

Лабораторні дослідження проводять з використанням хроматографічних, мас-спектрального, спектрального, електрохімічного методів аналізу забруднення атмосферного повітря.

Широкий спектр методів оцінювання забруднень атмосфери є запорукою того, що можна з високою точністю з'ясувати якісні та кількісні характеристики речовин і сумішей, наявних у повітрі.

Методи відбору проб атмосферного повітря для лабораторного аналізу. Одним з основних елементів аналізу якості атмосферного повітря є відбір проб. Важливість його зумовлюється тим, що за неправильного відбору проб результати аналізу втрачають сенс. Проби повітря відбирають аспіраційним способом (пропускаючи повітря через поглинальний прилад з визначеною швидкістю) і способом заповнення посудин обмеженого об'єму. Для дослідження газоподібних домішок придатні обидва способи, а для дослідження аерозольних домішок і пилу — лише аспіраційний.

Аспіраційний спосіб відбору проб повітря. У результаті пропускання повітря через поглинальний прилад відбувається концентрування аналізованої речовини в поглинальному середовищі. Для визначення концентрації речовини витрата повітря повинна становити десятки і сотні літрів за хвилину. Проби поділяють на разові (період відбору 20–30 хв.) та середньодобові (не менше 4-разових проб, через однакові проміжки часу протягом доби о 1, 7, 13 та 19 год.). Найкращим способом отримання середньодобових значень є безперервний відбір проб повітря протягом 24 год.

Важливим елементом системи аспіраційного пробовідбору є поглинальні пристрої, призначені для вбирання газоподібних речовин, аерозолів і пилу.

Відбір проб повітря способом заповнення посудин обмеженого об'єму. Використання цього способу зумовлено значною агресивністю хімічних речовин, які вловлюють з повітря поглинальні пристрої. Звичайні скляні ємності найчастіше використовують при відборі проб повітря для визначення оксиду вуглецю та інших газових домішок. Скляний посуд заповнюють аналізованим повітрям шляхом продування через посудину його 10-кратного об'єму, після чого посудину закривають; за допомогою вакуумного заповнення (з герметично закритих посудин повітря відкачується, їх відкривають у місці відбору проби і потім знов закривають); способом заміщення попередньо залитої в посудину інертної рідини повітрям (після того, як рідина вилилась, посудину закривають).

Охарактеризовані методи відбору проб дають змогу відібрати повітря для лабораторного аналізу за різноманітних умов. Вибір конкретного методу залежить від мети дослідження і якісного складу проби повітря: Правильний відбір проби впливає на достовірність лабораторних визначень концентрації забруднюючої речовини в повітрі.

У зв'язку з тим, що метеорологічні чинники зумовлюють перенесення і розсіювання шкідливих речовин в атмосферному повітрі, відбір проб повітря повинен супроводжуватися спостереженнями за димовими факелами джерел викидів і такими метеорологічними параметрами, як швидкість і напрям вітру, температура і вологість повітря, атмосферні явища, стан погоди і підстилаючої поверхні. Результати спостережень записують у робочий журнал гідрометеоспостерігача, а оброблені результати — у книгу запису спостережень за забрудненням атмосферного повітря і метеорологічними елементами (КЗА-1).

На стаціонарних пунктах (лабораторіях типу «ПОСТ») системи відбору проб повітря забезпечують їх разовий відбір для дослідження газових домішок, сажі, пилу та аерозолів. Система відбору проб повітря для аналізу газових домішок і сажі складається з повітропроводу, обладнаного нагрівальним пристроєм з терморегулятором, розподільного гребінця для підключення поглинальних приладів та двох електроаспіраторів. Система відбору проб повітря для дослідження пилу утворюється з трубки, яка обладнана фільтрами, та гнучкого шланга, котрий підключають до повітропроводу.

За нестаціонарних умов використовують аспірацію повітря за допомогою двигуна внутрішнього згоряння або пиłosоса, підключеного до стаціонарного джерела зі струмом.

Екологічне нормування якості атмосферного повітря

З метою обмеження і контролювання антропогенних впливів на навколишнє середовище запроваджують екологічне нормування — комплекс заходів для встановлення граничних меж, в яких можуть коливатися параметри показників, які характеризують стан природного середовища. Екологічному нормуванню підлягають усі небезпечні речовини. До них належать речовини, що надходять до навколишнього середовища як продукти чи супутні утворення людської діяльності і становлять пряму чи опосередковану загрозу суспільству або довкіллю загалом, знешкодження яких у поточний момент часу може бути здійснено тільки завдяки значним техніко-економічним та організаційним витратам.

Кількісну оцінку вмісту речовин в атмосфері позначають поняттям “концентрація” — кількість речовини, яка міститься в одиниці об’єму повітря, приведеного до нормальних умов.

Якість атмосферного повітря — сукупність властивостей повітря, яка визначає ступінь впливу фізичних, хімічних і біологічних факторів на людей, рослинний та тваринний світ, а також на матеріали, конструкції і довкілля загалом.

Оцінюють рівень забруднення середовища та його якість, використовуючи показники гранично допустимих концентрацій.

Основним критерієм якості середовища є гранично допустима концентрація (ГДК) забруднюючої речовини.

Гранично допустима концентрація (ГДК) — це кількість забруднюючої речовини в природному середовищі, віднесена до маси чи об'єму його конкретного компонента, яка при постійному контакті чи при тимчасовій дії практично не впливає на здоров'я людини і не викликає негативних змін у нащадків.

Отже, основним критерієм встановлення нормативів ГДК для оцінювання якості атмосферного повітря є обсяг і особливості дії наявних у повітрі забруднюючих речовин на організм людини. Для визначення якості атмосферного повітря послуговуються двома ГДК — максимально разовою (ГДК_{М.Р}) і середньодобовою (ГДК_{С.Д}).

Максимально разова гранично допустима концентрація (ГДК_{М.Р}) — основна характеристика небезпечності шкідливої речовини, яка встановлюється для попередження рефлексорних реакцій у людини (відчуття запаху, світлової чутливості, біоелектричної активності головного мозку) при короткотривалому впливі атмосферних домішок.

Максимально разові ГДК застосовують, оцінюючи умови праці у забруднених приміщеннях.

Середньодобова гранично допустима концентрація (ГДК_{С.Д}) — характеристика небезпечності шкідливої речовини, встановлена для попередження загальнотоксичного, канцерогенного, мутагенного та інших впливів речовин на організм людини.

Речовини, які оцінюють за цим нормативом, здатні тимчасово або постійно накопичуватися в організмі людини.

ГДК_{М.Р} встановлюють для промислових підприємств, а ГДК_{С.Д} — для зон житлової забудови. Різниця між цими показниками зумовлена тим, що на підприємствах до роботи допускають, як правило, здорових людей, які пройшли медичний огляд і стійкіші до дії на організм шкідливих речовин. Отже, ГДК_{М.Р} більші, ніж ГДК_{С.Д}.

Також виділяють гранично допустима концентрація робочої зони (ГДК_{Р.З}).

Гранично допустима концентрація робочої зони (ГДК_{Р.З}) — це концентрація шкідливої речовини, яка при щоденному впливі протягом 8 год. (41 год. На тиждень) не впливає на здоров'я.

При умові присутності у повітрі декількох речовин їх сумарна концентрація не повинна перевищувати одиницю.

Різні види ГДК лежать в основі принципу роздільного нормування забруднень у повітрі.

На основі ГДК інженерні служби розраховують розміри гранично допустимих викидів (ГДВ) речовин в атмосферу.

Гранично допустимий викид (ГДВ) — це максимальна кількість викидів за одиницю часу, яка не призводить до перевищення їх ГДК на межі санітарно захисної зони. Встановлюється в метрах кубічних за годину (м³/год).

При визначенні ГДВ враховують кількість джерел викидів, їх висоту розташування, стан атмосфери, фонові концентрації речовин, викиди від інших джерел. Нормативи ГДВ встановлюють на 10 років.

Для речовин ГДВ яких не встановлені використовують нормативи тимчасово узгоджених викидів (ТУВ).

Аналіз забрудненості повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація).

Лишайники — своєрідна група комплексних організмів — гриба (мікобіонта) й водорості (фікобіонта), які утворюють єдине симбіотичне співжиття, що відрізняється вільними морфологічними типами й особливими фізіолого-біохімічними процесами. Вегетативне тіло лишайника, яке називають талломом або сланню, цілком складається з переплетення грибних гіфів. Водорості або розкидані безсистемно серед грибних гіфів у всій товщі слані, або розташовані окремим диференційованим шаром трохи нижче її поверхні.

Водоростевий та грибний компоненти лишайника перебувають у дуже складних взаєминах. Мікобіонт поводить як паразит і сапрофіт на тілі водорості, а фікобіонт, у свою чергу, паразитує на лишайниковому грибі. При цьому паразитизм фікобіонта завжди носить більш помірний характер, ніж паразитизм гриба. Слань лишайників дуже різноманітна за розмірами, формою, будовою та забарвленням. Залежно від зовнішнього вигляду розрізняють три основних морфологічних типи лишайників:

1. Накипні, таллом яких являє собою скоринку, що міцно зчеплена зі субстратом (корою дерева, поверхнею каміння) (рис. 13).

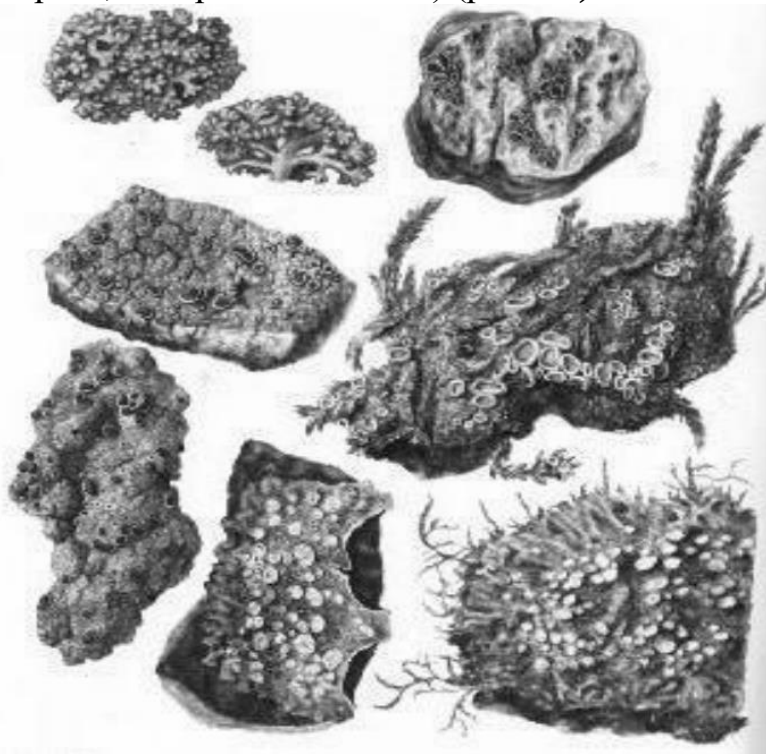


Рис. 13. Накипні лишайники

Такі лишайники неможливо відокремити від субстрату без ушкодження.

Як правило, накипні слані мають невеликі розміри, а їхній діаметр становить кілька міліметрів або сантиметрів (іноді може досягати й 20–30 см).

2. Листуваті, таллом яких має вигляд лусочок або листоподібних пластинок (рис. 14). Найбільш проста слань листуватих лишайників має вигляд однієї великої округлої листоподібної пластинки, що досягає в діаметрі 10–20 см. Слань, що складається з однієї листоподібної пластинки, зветься монофільною. Монофільна пластинчаста слань звичайно прикріплюється до субстрату тільки у своїй центральній частині за допомогою товстої короткої ніжки, що називають гомфом. Більш складною за будовою є листувата слань, розсічена на безліч дрібних лопастей. Як правило, вони зібрані в округлі розетки, але іноді утворюють слані невизначених, нескінченно різноманітних форм.

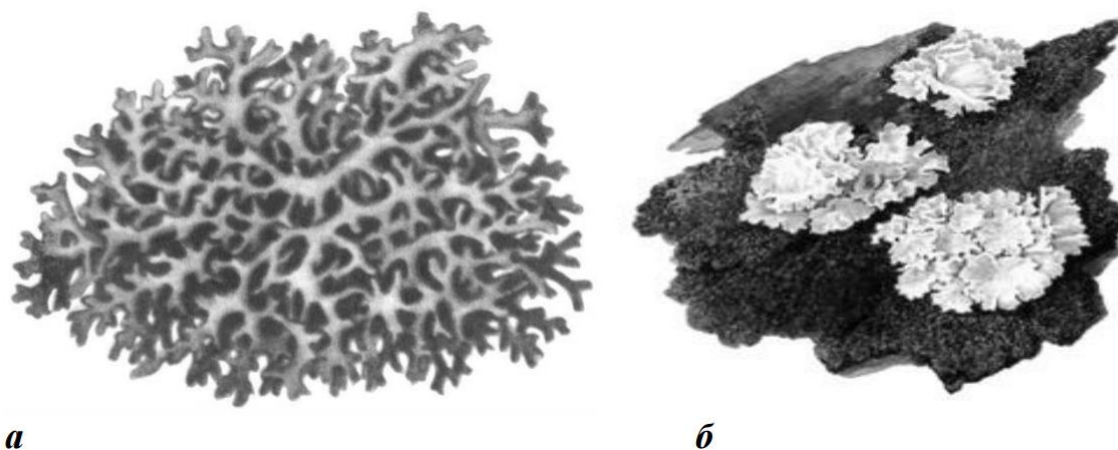


Рис. 14. Листуваті лишайники: а – пармелія ; б – цетрарія

Характерною рисою нижньої поверхні листуватих лишайників є те, що вона майже завжди утворює особливі органи, за допомогою яких листуватий лишайник прикріплюється до субстрату. На відміну від накипних лишайників, слань яких щільно зростається із субстратом, листуваті лишайники звичайно досить слабо з ним зв'язані й, у більшості випадків, можуть бути легко відділені від субстрату.

3. Рунисті, таллом яких складається з гілочок або звисаючих «борід» (рис. 15). За організаційним рівнем рунисті лишайники представляють собою вищий етап розвитку слані. На відміну від накипних і листуватих форм лишайників, для яких характерний горизонтальний ріст гіфів, у рунистих лишайників спостерігається вертикально спрямований ріст гіфів і верхівковий ріст сланей. Рунисті лишайники звичайно прикріплюються до субстрату тільки невеликою ділянкою нижньої частини слані. Прямостоячі рунисті лишайники найчастіше прикріплюються до ґрунту тонкими *ризоїдами* (грец. *rhiza* — корінь й *eidos* — вид) — нитковидними утвореннями, які виконують у грибів функцію кореня.

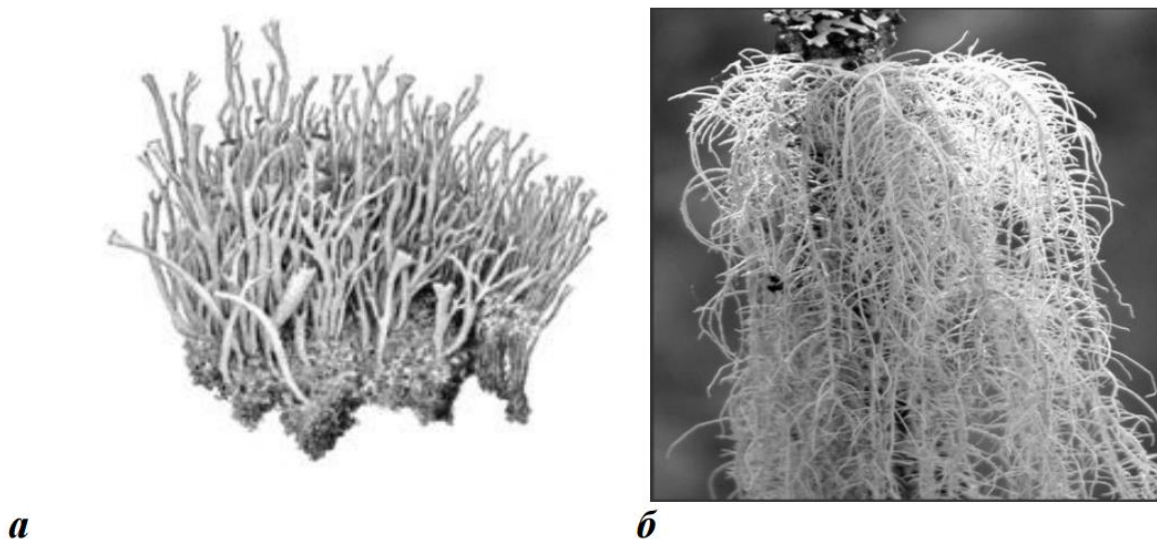


Рис. 15. Рунисті лишайники: а – кладонія; б – уснея

Особливості використання лишайників для цілей біоіндикації. Все необхідне для життя лишайники отримують із повітря й атмосферних опадів, і при цьому не мають спеціальних пристосувань, що запобігають надходженню в їхні тіла різних забруднювачів. Таллом лишайника не має кутикули, тому поглинання елементів проходить дуже швидко, і шкідливі речовини легко накопичуються без можливості виділення. Надходячи в таллом, такі з'єднання руйнують хлоропласти водоростей, рівновага між компонентами лишайника порушується, і організм гине. Тому багато видів лишайників швидко зникають з територій, підданих значному забрудненню атмосферного повітря. Таким чином, лишайники є ідеальним об'єктом біоіндикації стану атмосферного повітря.

Вимогливість лишайників до чистоти повітря зростає в ряді «накипні → листуваті → рунисті». Тобто самими витривалими і толерантними є накипні лишайники. Листуваті проявляють середню чутливість до забруднення повітря, а рунисті лишайники зникають при перших симптомах забруднення.

Метод оцінки забруднення атмосферного повітря за допомогою лишайників одержав назву *ліхеноіндикація*. У ліхеноіндикації використовуються методи пасивного й активного спостереження.

В процесі *пасивного* спостереження вивчають кількість лишайників та їх видів, а також розміри покриття лишайниками поверхні субстрату в природному біотопі. При *активному* спостереженні ступінь забруднення атмосферного повітря шкідливими речовинами оцінюють за кількістю ушкодженого таллону (% від загальної площі лишайника) і за вмістом забруднюючих речовин у слані лишайника.

Опис методу. Обирають район для дослідження й складають його карту з нанесенням ТЕС, заводів, потужних підприємств та великих автомагістралей.

Розбивають досліджувану територію на квадрати розміром 10х10 м, 20х20 м, 50х50 м, 100х100 м (залежно від мети дослідження й розрідженості насаджень). У кожному квадраті вибирають 10 старих, але здорових дерев, що

ростуть окремо. На кожному дереві підраховують кількість видів лишайників. При цьому, точну назву видів знати не обов'язково — досить відрізнати їх за формою таллону.

Потім проводять оцінку ступеня покриття деревного стовбура лишайником. Для цього на висоті 30–150 см на найбільш зарослу лишайниками частину кори дерева накладають рамку з розмірами 10x10 см і клітками 1x1 см (*палетку*). Підраховують, який відсоток загальної площі рамки займають лишайники.

Крім дерев, додатково можна досліджувати заростання лишайниками каменів, ділянок ґрунту, стін будинків і т.д. Отримані результати заносять в таблицю (табл. 12).

Таблиця 12

Результати ліхеноіндикації

Ознака	Дерева								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Кількість накипних лишайників									
Кількість листуватих лишайників									
Кількість рунистих лишайників									
Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %									
Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %									
Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %									

Потім підраховують частоту зустрічаємості кожного виду лишайників за формулою:

$$A^{\text{виду}} = \frac{m^{\text{виду}}}{n} \cdot 100, \%$$

де $m^{\text{виду}}$ — кількість лишайників даного виду; n — загальна кількість дерев у досліджуваному квадраті (у нашому випадку $n=10$).

Визначають середній ступінь покриття площі рамки лишайниками кожного виду за формулою:

$$S^{\text{виду}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i, \%$$

де S_i — ступінь покриття площі рамки лишайниками окремого дерева, %.

Після цього кожному отриманому значенню частоти зустрічальності лишайників певного виду $A^{виду}$ й ступеню їхнього покриття $S^{виду}$ привласнюють свій умовний бал оцінки: відповідно $a^{виду}$ й $s^{виду}$ за шкалою, наведеною в табл. 13.

Таблиця 13

Оцінка частоти зустрічальності й ступеня покриття лишайниками за п'ятибальною шкалою

Умовний бал оцінки	Частота зустрічальності $A^{виду}$		Ступінь покриття $S^{виду}$	
	значення, %	оцінка	значення, %	оцінка
1	0-5,0	дуже рідко	0-5,0	дуже низький
2	5,1-20,0	рідко	5,1-20,0	низький
3	20,1-40,0	рідко	20,1-40,0	середній
4	40,1-60,0	часто	40,1-60,0	високий
5	60,1-100	дуже часто	60,1-100	дуже високий

Для кожного виду лишайників обчислюють середній умовний бал частоти зустрічальності й ступеню покриття за формулою:

$$M^{виду} = \frac{a_i^{виду} + S_i^{виду}}{2}.$$

Після цього визначають показник відносної чистоти атмосфери:

$$Q = \frac{M^H + 2 \cdot M^L + 3 \cdot M^K}{30},$$

де M^H , M^L і M^K — середній умовний бал частоти ідентифікації й ступеню покриття накипних, листуватих і рунистих лишайників, відповідно.

За даним показником згідно шкали, наведеної в табл. 14, роблять висновки щодо ступеня забруднення атмосферного повітря.

Таблиця 14

Шкала оцінки забруднення атмосферного повітря за результатами ліхеноіндикації

Показник відносної чистоти атмосфери Q	Оцінка забруднення
0,0-0,20	сильне («лишайникова пустеля»)
0,21-0,40	досить сильне
0,41-0,60	середнє
0,61-0,80	незначне
0,81-1,0	забруднення відсутнє

Використана література

1. Айрапетян Т. С. Конспект лекцій з дисципліни «Технологія очистки промислових стічних вод» для студентів 4 курсу денної та 5 курсу заочної форм навчання напряму підготовки 6.060103 – Гідротехніка (Водні ресурси), фахове спрямування «Раціональне використання і охорона водних ресурсів». Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2017. 73 с.
2. Біоекологія. Термінологічний словник-довідник : навчальний посібник / за ред. проф. В. В. Поліщука. Умань : УНУС, 2021. 474 с.
3. Біоіндикація. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт студентами напряму підготовки 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» / А. І. Горова, А. В. Павличенко, О. О. Борисовська, В. Ю. Грунтова, О. В. Деменко. Д.: Національний гірничий університет, 2014. 76 с.
4. Біологічна очистка та дезодорація газоповітряних викидів : навч. посіб. / Шестоपालов О. В., Бахарєва Г. Ю., Філенко О. М. та ін. Харків : НТУ «ХП», 2015. 116 с.
5. Біотехнологічний захист та охорона навколишнього середовища : навчальний посібник / О. В. Шестоपालов, І. В. Пітак, Т. Б. Новожилова та ін. Харків : «Технологічний центр», 2016. 218 с.
6. Белінська А. П., Близнюк О. М., Масалітіна Н. Ю., Мироненко Л. С. Біоконверсія відходів : навчальний посібник для студентів денної та заочної форм навчання спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Харків : НТУ «ХП», 2023. 198 с.
7. Знешкодження та утилізація відходів в агросфері : навч. посібник / В. К. Пузік, Р. В. Рожков, Т. А. Долгова та ін. Харків : ХНАУ, 2014. 220 с.
8. Караїм О. А. Техноекологічні основи безвідходних виробництв : конспект лекцій. Луцьк : Вежа-Друк, 2014. 88 с.
9. Кляченко О. Л., Коломієць Ю. В., Янсе Л. А., Постоєнко В. О. Екологічна біотехнологія та біоінженерія. Ч.2. Клітинні технології. Підручник. Київ : Аграрна наука, 2021. 300 с.
10. Кляченко О. Л., Мельничук М. Д., Іванова Т. В. Екологічні біотехнології : теорія і практика : навчальний посібник. Вінниця : ТОВ «Нілан-ЛТД», 2015. 254с.
11. Козар М. Ю., Боровик О. Я. Природоохоронні біотехнології. Лабораторний практикум : навчальний посібник для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія», освітньої програми «Біотехнології». Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2019. 55 с.
12. Козар М. Ю., Зубченко Л. С. Екобіотехнологія та біоенергетика : лабораторний практикум : навч. посіб. для студ. спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» та 163 «Біомедична інженерія». Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2021. 63 с.
13. Костюченко Н. І. Промислова мікробіологія : навчальний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра напряму підготовки «Екологія,

- охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування». Запоріжжя : ЗНУ, 2016. 104 с.
14. Мельничук М. Д. Екологія біологічних систем (екологія мікроорганізмів): навчальний посібник / М. Д. Мельничук, О. Л. Кляченко, В. В. Бородай. Вінниця : ТОВ «Нілан-ЛТД», 2014. 248 с.
15. Методичні вказівки до лабораторних занять із дисципліни «Біотехнології» за темою «Біоіндикація та біотестування стану навколишнього середовища» / укладач Є. Ю. Черниш. Суми : Сумський державний університет, 2015. 29 с.
16. Никифоров В. В., Дігтяр С. В., Мазницька О. В., Козловська Т. Ф. Біоіндикація та біотестування : навчальний посібник. Кременчук : КрНУ, 2016. 100 с.
17. Обладнання та проектування в біоенергетиці та водоочищенні і управління безпекою праці / за ред. Л. А. Саблій. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2017. 376 с.
18. Основні засади управління якістю водних ресурсів та їхня охорона : навч. посібник / за ред. В. К. Хільчевського. Київ : ВПЦ "Київський університет", 2015. 172 с.
19. Петрук В. Г., Васильківський І. В., Іщенко В. А., Петрук Р. В. Управління та поводження з відходами. Частина 4. Технології переробки твердих побутових відходів : навчальний посібник. Вінниця : ВНТУ, 2016. 233 с.
20. Пляцук Л. Д., Черниш Є. Ю. Екологічна біотехнологія : принципи створення біотехнологічних виробництв : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2018. 293 с.
21. Проектні рішення у розробці апаратів біологічної очистки газоподібних викидів : монографія / за ред. проф. Л. В. Кричківської. Харків : НТУ "ХП", 2014. 207 с.
22. Саблій Л. А., Бунчак О. М., Жукова В. С. Практикум з біотехнологій очищення води : навчальний посібник для здобувачів ступеня бакалавра за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. 108 с.
23. Слободяник М. С., Чеботько К. О., Войтенко Л. В., Копілевич В. А., Жирнов В. В., Косматий В. Є. Біоконверсія органічних відходів : теорія і практика. Ніжин : Видавець ПП Лисенко М.М., 2015. 208 с.

Сварчевська Оксана Зіновіївна

Буцяк Василь Іванович

НАВЧАЛЬНЕ ВИДАННЯ

ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЯ

**Методичні вказівки для лабораторних робіт
здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої
освіти
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
ОП «Біотехнології та біоінженерія»**

Підписано до друку2024 р. Формат 60х84 ^{1/16}

Папір офсетний. Тираж 50 прим.

Видавництво “ ”