МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Ґжицького

кафедра біотехнології та радіології

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання лабораторних робіт з дисципліни

„Біотехнологія відновлення екосистем”

для студентів денної та заочної форм навчання за спеціальністю 162 „Біотехнології та біоінженерія”

Львів – 2020

УДК 557.1/2

Укладачі: д. с.-г. н., професор Буцяк В.І., к.с.-г.н., доцент Буцяк Г.А.

Рецензенти:
д. с.-г. н., професор, завідувач кафедри технології виробництва та переробки продукції тваринництва ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького Шаловило С.Г.;
к. х. н., доцент кафедри технології біологічно активних речовин та біотехнології НУ “Львівська політехніка” Губрій З.В.

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни „Біотехнологія відновлення екосистем” для студентів спеціальності 162 „Біотехнології та біоінженерія” спрямовані на поглиблене вивчення теоретичних основ та формування відповідних практичних навиків щодо цілісного уявлення про напрямки, масштаби, наслідки антропогенної трансформації екосистем, а також можливості науково обґрунтованого керування процесами їх відновлення.

© Буцяк Василь Іванович, Буцяк Ганна Андріївна, 2020

Методичні поради щодо організації і проведення лабораторних робіт

Теоретичні узагальнення та урахування точки зору практиків показали, що ефективність вирішення завдань в умовах професійної підготовки підвищується за умови використання різних видів самостійної пізнавальної діяльності, організованих на засадах поступового ускладнення і наскрізного характеру, серед яких лабораторні роботи посідають чинне місце.

Використання лабораторних робіт у навчальному процесі дозволяє збільшити частку самостійної діяльності тих, хто навчається, надає можливість поєднувати репродуктивне і пошукове навчання й саме у такому сенсі є потужним засобом підвищення самостійної пізнавальної активності. За своїм змістом лабораторні роботи мають безпосередню належність до «самостійної роботи», яку в теорії навчання визначають як дидактичний засіб навчання, штучну педагогічну ситуацію, за допомогою якої викладач організує діяльність.

Проведення лабораторних робіт у процесі вивчення окремих тем із дисципліни підвищує інтенсивність і самостійність навчальної діяльності студентів. Цей процес відбувається через необхідність досягнення конкретної мети та досягнення шляхів її вирішення, що спонукає до використання різноманітних додаткових джерел інформації, а це, у свою чергу, вимагає певних зусиль, підкріплених мотивацією.

Окрім того, розв’язання поставленої задачі, як правило, ініціює взаємодію з одногрупниками, викладачами, а відтак сприяє розвитку і удосконаленню комунікативної компетенції. Проведення лабораторних робіт на заняттях створює передумови усвідомлення ролі і практичного значення набутих знань, виявленню аналітичних, організаторських здібностей, а головне включає студентів у різні види самостійно-пізнавальної діяльності – практичної, інтелектуальної, предметної.

Головне завдання лабораторних робіт – подолання розриву між теорію і практикою, посилення міжпредметних зв’язків, формування пізнавальної активності, адже саме на практичних роботах теоретичні знання зазнають корекції, адаптації, визначається можливість їхнього застосування у різних практичних і побутових ситуаціях.

Отже у такий спосіб відбувається можливість застосування набутих знань у нових ситуаціях, наочно виявляється їх значення у майбутній професійній діяльності.

Функції, що покладаються на лабораторні роботи:

1) формування навичок самостійної роботи;

2) поглиблення, розширення та конкретизація теоретичних знань;

3) розвиток експериментальних умінь та навичок самостійної експериментально-пошукової діяльності;

4) набуття умінь планувати діяльність, фіксувати і зіставляти проміжні та кінцеві результати; оцінювати їх вірогідність;

5) можливість самостійно перевірити, впевнитися з окремих екологічних аспектів, які поширені в повсякденному житті і будуть мати безпосереднє відношення до майбутньої професійної діяльності.

Обсяг знань, які передбачаються до засвоєння на лабораторних роботах ґрунтується на поєднанні різних видів розумової і фізичної діяльності студентів.

Структура їх проведення ідентична тим, що проводяться на заняттях: визначається тема, формулюється мета і завдання, планується зміст, визначаються форми і методи виконання, термін подання звіту. У такий спосіб, відбувається значне збільшення частки самостійної діяльності, посилюється відповідальність, з'являється можливість у більшому ступені враховувати індивідуальні особливості, інтереси та рівні навчальних досягнень студентів. Відповідальність за якість виконання таких робіт значно підвищиться за умови, коли студенти наперед будуть знати про необхідність доповісти про її результати.

Методичним вказівкам з кожної теми передує теоретичний матеріал, який поглиблюється вставками з додатковою інформацією різного напряму; визначено мету, перелік обладнання, вказано послідовність виконання дій та операцій, оформлення отриманих результатів роботи, сформульовані питання для закріплення.

Алгоритм лабораторної роботи: Робота № → Тема → Теоретична частина (аналітична інформація з проблеми) → Мета → Об'єкт дослідження → Предмет дослідження → Обладнання, реактиви, матеріали → Хід роботи → Схема запису результатів → Висновки → Запитання.

Отже зміст кожної практичних робіт умовно можна поділити на три складові:

1. Організаційно-підготовча.
2. Змістовно-процесуальна.
3. Узагальнюючо-заключна.

Перша складова передбачає підготовку до проведення практичних робіт, коли виконавці ознайомлюються із темою роботи, метою, якої необхідно досягти, отримують відповідні вказівки, конкретизуються завдання, за необхідністю відбувається поділ на підгрупи, отримуються методичні рекомендації щодо проведення роботи.

Змістовно-процесуальна частина – розв'язання поставлених завдань, яке може відбуватися під керівництвом викладача, який надає поточні консультації, допомагає. Робота також може виконуватися самостійно. В процесі виконання роботи поточні результати записують, вносять у таблиці, будують графіки. Доцільно запропонувати до використання додаткову літературу, конспекти.

Узагальнюючо-заключна складова роботи передбачає формулювання висновків, підготовку звітів. Доцільно запровадити захист проведеної практичної роботи, в процесі якого виконавець коротко доповідає про отримані результати і зроблені висновки та відповідає на запитання викладача.

Правила техніки безпеки під час роботи в лабораторії:

1. Будь-яку роботу в лабораторії студент повинен виконувати, будучи вдягненим у халат. При потребі необхідно використовувати гумові рукавички, респіратори, захисні окуляри та інші засоби захисту.

2. Під час проведення дослідів слід підтримувати порядок на робочому місці.

3. Усі досліди з леткими, отруйними та горючими речовинами проводити у витяжній шафі з ввімкненою тягою (та засобами гасіння пожежі, при потребі).

4. Не їсти в лабораторії.

5. Для відбирання проб реактивів використовувати ложки та шпателі, а не брати їх руками, не куштувати їх на смак.

6. Для визначення запаху речовини потрібно спрямовувати повітря рухом долоні від посудини з речовиною до себе.

7. При нагріванні пробірки з розчином її отвір спрямовують у бік від себе і товаришів.

8. При розбавлянні концентрованих кислот їх необхідно вливати у воду, а не навпаки.

9. Забороняється кидати у раковину шматочки металів, карбіду кальцію, зливати кислоти, луги, ефіри, в'язкі речовини. Відпрацьовані реактиви зливають або поміщають у спеціально призначені посудини.

Перша допомога при опіках і отруєннях

1. При термічних опіках уражене місце треба промити розчином калій перманґанату і змастити емульсією від опіків.

2. При опіках шкіри кислотами спочатку добре промивають місце опіку водою, а потім розчином натрій гідрокарбонату, при опіках лугами - 1%-ним розчином оцтової кислоти.

3. При опіках шкіри їдкими органічними речовинами уражене місце промивають етиловим спиртом.

4. При потраплянні на шкіру фенолу її промивають водою, а потім розбавленим розчином аміаку.

5. При потраплянні у дихальні шляхи хлору чи брому спочатку потрібно подихати парою етилового спирту, а потім вийти на свіже повітря.

6. При потраплянні лугу чи кислоти в очі необхідно промити їх теплою водою, а потім 2%-ним розчином борної кислоти (щоб нейтралізувати луг) або 1%-ним розчином натрій гідрокарбонату (щоб нейтралізувати кислоту).

Лабораторна робота №1.
Тема: “Бактеріологічні дослідження води та повітря”

Мета роботи: Виявлення показників щодо забрудненості повітря та санітарно-бактеріологічне дослідження води.

Завдання:

1. Визначити кількість мікроорганізмів у 1 $м^3$ повітря у різних приміщеннях.
2. Провести визначення кількості Колі-індексу в 1 мл води.

Теоретичні основи.

Повітря не є середовищем, сприятливим для існування і розвитку мікроорганізмів. Потрапляючи в повітря, вони швидко гинуть внаслідок висихання, дії сонячних променів і нестачі поживних речовин. Склад мікрофлори повітря дуже різноманітний. Він залежить від ступеня забрудненості повітря мінеральними та органічними речовинами, температури, вологості тощо.

Серед мікроорганізмів, які найчастіше виявляються в повітрі, переважають спороносні бактерії родів Bacillus, Clostridium, цільові гриби, які найбільш стійкі до висихання, а також пігментовані бактерії родів Micrococcus, Sarcina, Serratia, які стійкі до дії ультрафіолетових променів. Мікроорганізми у повітрі потрапляють, головним чином, з грунту.

Людина в середньому за добу вдихає 12000-14000 л повітря, при цьому 99,8% мікробів, які містяться в повітрі, затримуються у дихальних шляхах. У повітрі закритих приміщень виявляють бактерії, які виділяються зі слизових оболонок верхніх дихальних шляхів людини при чханні, кашлі, розмові. Від хворих у повітря виділяються поряд з умовно-патогенними мікроорганізмами (стафілококами, стрептококами) патогенні мікроби (гемолітичні стрептококи, бактерії дифтериту, кашлюку, мікобактерії туберкульозу та інші).

При дослідженні повітря закритих приміщень важливим є метод вловлювання мікроорганізмів із повітря. Залежно від цього розрізняють седиментаційні, фільтраційні та аспіраційні методи дослідження повітря. В основі усіх методів лежить однаковий принцип підрахунку бактерій. Вважають, що кожна бактерія, яка потрапила на агаризоване поживне середовище, розмножується, утворюючи колонію, яку можна побачити неозброєним оком. За кількістю підрахованих колоній розраховують кількість бактерій, вловлених при аналізі повітря.

Метод вловлювання повітря рідинами належить до фільтраційних методів. Певний об’єм повітря продувають через певний об’єм рідини (стерильна вода, буфер, рідке поживне середовище). По 0,1 мл цієї рідини висівають у чашки Петрі на тверде поживне середовище. Чашки інкубують у термостаті. Через певний час підраховують кількість колоній, що виросли на чашках. При обчисленні кількості мікроорганізмів у повітрі враховують

об’єм рідини-поглинача та об’єм повітря, яке пройшло через рідину. Аспіраційний метод з використанням апарата Кротова.

Конструкція апарата Кротова ґрунтується на принципі ударної дії струменя повітря. Апарат складається з трьох частин: вузла для відбору проб повітря, мікроманометра та електромотора. Апарат може пропускати від 25 до 50 л повітря за хвилину. «Засіяні повітрям» чашки інкубують у термостаті. Через певний час підраховують кількість колоній, які виросли на них. Результати аналізу виражають найчастіше мікробним числом – кількістю мікроорганізмів у 1м^3 повітря.

Метод осадження Коха належить до седиментаційних. Метод дає можливість виявити лише 35-60% мікробів повітря і дозволяє тільки орієнтовано оцінити чистоту повітря. Принцип методу полягає в тому, що мікроорганізми повітря досліджуваного приміщення разом з пилом осаджуються на поверхню поживного агару в чашці Петрі. Час осадження залежить від забрудненості повітря. «Засіяні повітрям» чашки інкубують у термостаті, а через 2-3 дні підраховують кількість колоній на них. Розрахунки мікробного числа виконують за формулою Омелянського (1):

$$x = \frac{n \times 5 \times 10^4}{t \times r^2},$$

де х – кількість мікроорганізмів у 1 м^3 повітря;

n – кількість колоній мікроорганізмів, які виросли у чашці Петрі;

t – час осадження, хв;

r^2 – площа чашки Петрі, см^2. Площа чашки Петрі дорівнює 78,5 см^2;

5 і 10^4 – коефіцієнти для перерахунку кількості мікроорганізмів у 1 м^3.

Для визначення загального мікробного забруднення проби повітря “висівають” на МПА. Для виявлення у повітрі дріжджів та цвілей використовують сусло-агар. Патогенні мікроорганізми виявляють на відповідних диференційно-діагностичних живильних середовищах, зокрема, гемолітичні стрептококи та стафілококи на кров’яному агарі. Офіційних стандартів чистоти повітря не розроблено, але прийнято показники оцінки ступеня мікробного забруднення приміщень (табл. 1).

Таблиця 1.

Число мікроорганізмів у 1 м^3 повітря

Оцінка чистоти повітря	Літній період		Зимовий період	
	Всього мікроорганізмів	Гемолітичні бактерії	Всього мікроорганізмів	Гемолітичні бактерії
Чисте	<1500	<16	<4500	<36
Забруднене	>2500	>36	>7000	>124

Сприятливим середовищем для розвитку мікороорганізмів є вода річок, ставків та інших водойм. Чисельність та різноманітність видів мікроорганізмів у воді залежить від вмісту в ній органічних речовин.

Особливо багато мікроорганізмів у стічних водах. Їх кількість у забрудненій воді може сягати кількох мільярдів в 1 мл.

Санітарно-бактеріологічне дослідження води включає:

- визначення загальної кількості мікроорганізмів в 1 мл води;
- визначення колі-титру або колі-індексу та, в окремих випадках (при несприятливих епідеміологічних показниках – спалахи холери, тифу, дизентерії та ін.), визначення патогенних мікроорганізмів, їх токсинів та фагів.

Правила відбору зразків води для аналізу.

Зразки води відбирають у стерильні 0,5 л флакони із водогінних кранів, насосів, труб та ін. Для цього останні попередньо обпалюють полум'ям ватного тампону, змоченого у спирті, потім спускають воду протягом 10 хв для того, щоб змити бактерії, які знаходились у верхній частині труб, і лише потім відбирають зразки. З відкритих водойм воду для дослідження відбирають за допомогою батометра – спеціального приладу, що представляє собою металевий каркас, всередині якого встановлюється стерильний посуд. Батометр дає змогу відбирати зразки з будь якої глибини.

Дослідження відібраних зразків води необхідно проводити не пізніше 2 год від моменту забору. Як виняток їх можна досліджувати пізніше, але слід пам'ятати, що після 6 год зберігання зразки води не підлягають бактеріологічному дослідженню, оскільки кількість мікроорганізмів у них суттєво змінюється.

Визначення загальної кількості мікроорганізмів у зразках води

Визначення загальної кількості мікроорганізмів (ЗКМ) проводять шляхом глибинного посіву в розплавлений та охолоджений до 45°С МПА у стерильній чашці Петрі. Чисту воду сіють в об'ємі 1 мл, при підозрі на забрудненість її розводять стерильним фізіологічним розчином від 1:10 до 1:1000 і висівають не менше двох розведень по 1 мл.

Для цього готують титраційний ряд пробірок з 9 мл фізіологічного розчину. У першу пробірку ряду вносять 1 мл досліджуваного зразка, перемішують і переносять у наступну пробірку 1 мл. Таким чином титрують далі. У кінцевому рахунку одержують розведення 1:10, 1:100; 1:1000 і т.д. Як правило на чашки Петрі висівають не менше двох розведень, кожне з яких у 2-х повторах.

Спочатку на дно стерильної чашки Петрі вносять краплинами 1 мл досліджуваної води або відповідного розведення і заливають 15 мл розплавленим та охолодженим до 45°С МПА. Обережно круговими рухами перемішують, не допускаючи попадання середовища на кришку чашки Петрі та не відриваючи її від поверхні стола. Після застигання агару чашки поміщають в термостат при 28°С.

Якщо досліджуваний зразок води містить значну кількість мікроорганізмів, то можна зробити висів газоном 0,2 мл води на поверхню чашки Петрі.

Відповідно до санітарних вимог питна водогінна вода повинна містити не більше 100 мікробних клітин в 1 мл. Мікробне число у воді колодязів та відкритих водойм не повинне перевищувати 1000.

Визначення колі-індексу у зразках води.

Колі-індекс – це кількість клітин кишкової палички в 1 л води. Його визначають висівом зразка води на диференційно-діагностичне середовище Ендо. Escherichia coli на середовищі Ендо утворює темно-червоні колонії з характерним металевим блиском, тому її легко діагностувати. Наявність кишкової палички свідчить про фекальне забруднення води. Воду висівають безпосередньо в товщу чи на поверхню середовища Ендо, або попередньо концентрують клітини фільтруванням досліджуваного зразка крізь мембранні фільтри.

Якщо через 18-24 год культивування при 37°С виростають червоні колонії з металевим блиском, то ці колонії фарбують за Грамом, мікроскопують, перевіряють на наявність оксидази і здатності утворювати газ при рості на лактозі. Виявлення у мазках грамнегативних паличок, газоутворення і відсутність оксидази свідчать про наявність у воді E. coli. Розраховують кількість клітин кишкової палички на 1л води.

Відповідно до санітарних норм питна водогінна вода повинна містити не більше 3 клітин E. coli в 1л, тобто колі-індекс повинен бути ≤ 3.

I. Хід роботи 1. Розплавлений стерильний МПА розлити у чашки Петрі. Після застигання середовища чашки відкрити у досліджуваному приміщенні на 10 хв. Чашки підписати і помістити у термостат з температурою 30°С на дві доби.

2. Підрахувати кількість колоній, що виросли на чашках. Щоб не помилитись при підрахунку, кожну колонію необхідно відмічати з дна чашки маркером. Заміряти діаметр чашки за допомогою лінійки. Обчислити мікробне число за формулою Омелянського. Оцінити якісний склад бактерій повітря досліджуваних приміщень. Результати занести до таблиці, наведеної нижче:

Досліджуване приміщення	Кількість мікроорганізмів у $м^3$ повітря

II. Хід роботи: Для дослідження мікрофлори води необхідно виконати такі процедури:

1. Відібрати зразок води згідно вказаних правил;
2. Висіяти газоном по 0,2 мл води на поверхню МПА і середовища Ендо;
3. Чашку Петрі з МПА культивувати 2-3 доби при 28°С, а з середовищем Ендо – 1 добу при 37°С.
4. Провести визначення кількості Колі-індексу/л.

На основі отриманих експериментальних результатів зробити висновок щодо досліджуваних об’єктів.

Лабораторна робота №2.
Тема: “Роль води в процесах життєдіяльності одноклітинних організмів”

Мета роботи: обробка експериментальних даних і моделювання процесу гетеротрофного культивування мікроорганізмів.

Завдання: дослідити вплив абіотичних факторів на культивування мікроорганізмів.

Матеріали та обладнання: культура дріжджів роду Candida, стерильний розчин базового фосфатного буфера для середовища, стерильні розчини мікроелементів, заліза лимоннокислого, сульфату магнію й хлористого амонію.

Теоретичні основи.

Вода входить до складу всіх без винятку живих організмів, причому в дуже багатьох істот вміст її значно перевищує кількість органічних та неоганічних речовин. Значним вмістом води характеризуються деякі організми, що живуть у воді. Так, наприклад, у кишково-порожнинних та нижчих хордових вода складає 95-97% тіла, а у медуз – майже 99%. Вода становить в середньому близько 65% тіла дорослої людини.

Вода – джерело кисню, що виділяється в процесі фотосинтезу і водню, який використовується для відновлення вуглекислого газу. Вода основне середовище для хімічних реакцій, які відбуваються в процесі обміну речовин, а також субстрат для деяких ферментних реакцій: гідролізу складних речовин, окиснення простих. Ендогенна вода утворюється в організмі, як головний продукт окиснення органічних речовин (з 100 г жиру утворюється 107 г води, з 100 г білка – 41 г води, з 100 г цукоридів – 55 г води).

Роль води визначається у її особливих фізичних та хімічних властивостями: текучість, розчинна здатність, висока діелектрична стала, значний дипольний момент молекули, велика питома теплоємність, теплота пароутворення тощо. Молекули води, як диполі, асоційовані між собою завдяки водневим зв’язкам. На розрив цих зв’язків витрачається досить велика кількість енергії, що надає воді високу теплоємність (у чотири рази вища, ніж у повітрі). Завдяки цьому вода впливає на процеси терморегуляції організмів. На кожний грам води, що випаровується з поверхні тіла витрачається 2,26 кДж тепла. Вода запобігає місцевим перегрівам в організмі тварин і людей, оскільки має більшу (в 2-4 рази) теплопровідність, порівняно з іншими рідинами.

Висока діелектрична стала води значно понижує електростатичну взаємодію між йонами електролітів, збільшує ступінь електролітичної дисоціації останніх, що має важливе значення у забезпечені кислотно-основної рівноваги, утворення біоелектричних потенціалів, поширення збудження, збереження водно-сольового балансу в організмі. За рахунок

цього також підвищується хімічна активність різних речовин, а отже, відбувається прискорення хімічних реакцій.

Більша частина води в клітині структурована, і тому реакції, які проходять в ній, відрізняються від хімічних реакцій у водневих розчинах поза організмом. Вода є основою внутрішнього середовища організму, забезпечує перенесення поживних речовин, продуктів обміну та біологічно активних речовин, є важливою ланкою для підтримання взаємозв'язку між органами.

Вода як розчинник має ряд особливостей, які обумовлюють її незамінність як дисперсного середовища, в якому відбуваються всі біохімічні процеси. Порівняно з іншими, вода є дуже універсальним розчинником; в ній розчиняється найбільша кількість відомих органічних і неорганічних речовин. Вода є відносно хімічно інертною, завдяки чому речовини, що розчиняються в ній, зберігають свої біологічні та хімічні властивості.

Хід роботи:

1. За даними таблиці 1 побудувати графіки термочутливості дріжджів роду Candida за різними показниками вологості біомаси (10 та 70%). На графіку:

вісь абсцис – температура t ^{0}C;

вісь ординат – виживаність клітин, %.

Таблиця 1.

Показники температурної виживаності дріжджів Candida

Температура, t ^{0}C	Виживаність клітин дріжджів, %	
	Вологість біомаси 10%	Вологість біомаси 70%
20	61	93
30	62	95
40	59	80
50	54	60
60	48	34
65	40	0
70	31	-

2. Графічним способом знайти температуру, за якою показники виживаності клітин дріжджів з вологістю 10 та 70% будуть збігатись.

3. Пояснити чому при зберіганні в герметичному посуді майже сухих хлібопекарських дріжджах (вологість 10-12%) кількість CO_2 за 2 тижня збільшується майже в 10 разів, а кількість O_2 зменшується до 18-19%.

4. Як, на Вашу думку, буде змінюватись газовий склад герметичного посуду, якщо вологість препаратів дріжджів буде менш як 5%?

5. Що таке анабіоз? Поясніть чому зв'язана вода втрачає властивості активного розчинника?

Лабораторна робота №3.
Тема: “Біотестування фітотоксичності речовин, що містяться у воді або ґрунті”

Мета роботи: визначення фітотоксичні речовини, що містяться у воді і ґрунті.

Завдання:

1. Одержати зразки біоіндекаторної тест-системи.
2. Підготувати досліджувані зразки до тестування.
3. Визначення фітотоксичної дії витяжки з ґрунту.

Матеріали та обладнання: 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.

Теоретичні основи.

Процеси урбанізації безжалісно поглинають гарні 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 росте 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 виявиться цілий ряд технологій, що включають використання штамів, отриманих методами генної інженерії, застосування полімерів, глибоку оранку й аерацію.

Основу біологічних і біохімічних досліджень (контролю) стану навколишнього природного середовища становлять реакції рослин, тварин і мікроорганізмів на дію певного чинника. Зміни можуть відбуватися на різному рівні: активності ферментів, проникності мембран та зміні інших органел клітини, окремих організмів, систем, популяції, екосистем.

У зв’язку з наявністю великої кількості хімічних сполук, вплив яких на якість елементів екосистем неможливо оцінити фізико-хімічними та геохімічними методами, все більшого значення набуває їх біотестування відносно реакцій біологічних систем зокрема організмів. За допомогою біотестування визначають ГДК нових хімічних сполук, проводять біохімічний і генотоксичний моніторинг довкілля. Результати отримані за допомогою фізико-хімічних і біологічних методів, доповнюють один одного.

Біологічні методи контролю стану довкілля пов’язані з двома основними напрямами – ***біоіндикацією*** та ***біотестуванням***.

Біоіндикація – поведінка та популяційна організація організмів або угрупувань, які дають інформацію щодо якості навколишнього середовища або змін цього середовища від певних чинників.

Група особин одного виду або угрупування за наявністю, станом і поведінкою яких визначають зміни у середовищі називають ***біоіндикаторами.*** Тобто біоіндикатори є „інструментом" ***біоіндикації.*** Багато організмів є чутливими до різних абіотичних і біотичних факторів середовища і можуть існувати лише в певних, часто дуже обмежених змінах цих факторів. Отже, спостереження за реакцією біоіндикаторів додаватиме відповідну інформацію про стан довкілля.

Біологічні системи, використовувані в якості біоіндикаторів, різноманітні і представлені:

- мікроорганізмами;
- нижчими рослинами;
- лишайниками;
- грибами;
- вищими рослинами;
- окремими видами суспільства тварин;
- клітинними та субклітинними компонентами організму.

Біологічні зміни, що характеризують стан окремих особин, групи організмів, популяцій та екосистем носять назву – індикаційні ознаки. Розглядаються й аналізуються індикаційні ознаки на різних рівнях організації. Відгуки на нижчих рівнях організації характеризуються високою чутливістю й специфічністю, тоді як відгуки на вищих рівнях найкращі з екологічної точки зору.

Особливістю методів біоіндикації є те , що вони підсумовують біологічні важелі дані щодо навколишнього середовища, здатні регулювати короткочасні залпові викиди токсичних речовин; реагують на швидкість змін, що відбуваються в навколишньому середовищі; вказують на місце накопичення забруднювачів та шляхи їх міграції; дають змогу розробляти оцінки шкідливого впливу токсикантів на людину та живу природу на ранніх стадіях та нормувати допустиме навантаження на екосистеми.

Але методи індикації не дають об'єктивну (кількісну) інформацію про фізико-хімічні особливості стресового фактора, що дія; вони потребують як правило, більшої повторюваності для отримання якісно-статистичних знаючих результатів. Кількісну оцінки якості навколишнього середовища або змін цього середовища дає ***біотестування.***

Складовими ***біотестування є тест-об'єкти та тест-реакції.***

Тест-об'єкт – організм або угрупування організмів, за ступенем впливу на які судять про якість об'єктів довкілля.

Тест-реакція (функція) – фізіологічний або поведінковий відгук організму на зміну середовища.

Біотестування відзначається (характеризується): надійністю, економічністю, можливістю створення автоматизованих систем збирання та обробки інформації.

Хід роботи:

Дана робота виконується за 3 етапи:

І етап – отримання зразків біоіндекаторної тест-системи:

1. Приготувати 200 мл 1% розчину $KMnO_4$.

2. Відібрати 50 зерняток пшениці у 5 повторах.

3. Обробити насіння у розчині KMnO4 на протязі 20 хвилин. Промити насіння проточною водою.

4. Розкласти пшеницю по 50 шт. на вологий фільтрувальний папір та поставити у термостат при температурі 25^0С на 3 доби.

ІІ етап – підготовка досліджуваних зразків до тестування

1. Відібрати проростки з довжиною колептелю – 2-3 см.

2. На предметному склі охайно відрізати самий кінчик колеоптилю (2 мм). З допомогою лінійки відрізати наступні 5 мм колеоптилю, в якій знаходиться зона розтягнення клітин та помістити її у чашку Петрі з дистильованою водою на 10 хв.

3. Приготувати 2% розчин цукрози.

4. Приготувати витяжки з ґрунту: 10 г розтертого зразку ґрунту залити 25 мл дистильованої води. Сильно збовтувати суспензію на протязі 10 хв. Далі суспензії відстоятись. Отриману витяжку з ґрунту профільтрувати.

5. Зробити серію розчинів витяжки з грунту методом послідовного розбавлення вихідного зразку в 2 рази.

6. У приготовлені серії розчинів: 1-0,5-0,25 в пеніцилінових флаконах (10 мл витяжки) помістити по 10 відрізків колеоптилів пшениці. Повторність кожного варіанту досліду – 3-х кратна. В якості контролю приймаються показник розтягнення колеоптилів у дистильованій воді. Поставити флакони у термостат при температурі 25^0С на 3 доби.

ІІІ етап – визначення фітотоксичної дії витяжки з ґрунту:

1. Поміряти довжину відрізків колеоптилів у кожному варіанті досліду.

2. 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

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

Лабораторна робота №4.
Тема: “ Біологічне видалення азоту з осаду стічних вод”

Мета роботи: визначення нітратів на різних етапах їх біологічного видалення зі стічних вод.

Завдання:

1. Дослідити мікробіологічну нітрифікацію йонів амонію до нітритів (Nitrosomonas);

2. Вивчити мікробіологічне окислення нітритів до нітратів (Nitrobacter);

3.Дослідити вплив абіотичних факторів на процес денітрифікації нітратів до молекулярного азоту.

Матеріали та обладнання: зразки стічних вод комунального призначення, міні-біофільтр, оцтова кислота, етанол.

Теоретичні основи.

Біологічне очищення стічних вод – добре освоєний процес. Однак, цей процес у його теперішньому стані дозволяє руйнувати тільки відносно прості органічні й амонійні з'єднання. Неорганічні з'єднання, токсини, комплексні з'єднання і складні органічні сполуки (які також можуть бути токсичними) зв'язуються з біомасою, частково руйнуються, але ступінь очищення від них набагато нижче.

Наприклад, використання очищення за допомогою активного мулу не гарантує видалення йонів важких металів (кадмій, хром, нікель, свинець, ртуть). Хоча концентрація таких неконтрольованих забруднень у комунальних стоках повинна бути обмежена, вони усе ще являють загрозу для навколишнього середовища при їхньому проскакуванні у вихідний стік. Якщо ж вони адсорбуються в активному мулі, то при внесенні цього мулу в ґрунт можуть виникати серйозні проблеми.

Процес очищення стічних вод може здійснюватися за допомогою звичайних очисних споруджень (аеротенк, біофільтр), штучно іммобілізовано біомаси за допомогою іммобілізованих ферментів. Успіхи в створенні і використанні нових видів біомаси і ферментів допоможуть вирішити багато складних проблем. Інша область, у якій успіхи біотехнології будуть сприяти поліпшенню очищення стічних вод, це видалення важких металів.

Звичайно іони важких металів видаляють з розчинів адсорбцією на полісахаридах. Однак сучасний рівень розвитку знань у цій області не дозволяє оптимізувати процес видалення іонів металів та керувати цим процесом у звичайних системах біоочистки стічних вод.

Хід роботи:

Біологічне видалення азоту відбувається у чотири етапи:

1 етап – амоніфікація;

2 етап – мікробіологічна нітрифікація іонів амонію до нітритів (Nitrosomonas);

3 етап - мікробіологічне окислення нітритів до нітратів (Nitrobacter);

4 етап – денітрифікація нітратів до молекулярного азоту.

Чисельність нітрифікуючи бактерій росте повільніше, аніж гетеротрофів та денітрифікаторів. Із зменшенням навантаження на очисні споруди вік активного мулу збільшується, а чисельність нітрифікаторів росте. Їх активність найбільш висока за умов pH середовища в інтервалі від 7,5 до 8,5. У більш кислому чи лужному середовищі процес нітрифікації призупиняється.

1. Збільшення показника pH менш сильно впливає на перший етап нітрифікації. В такому випадку який продукт починає накопичуватись у середовищі? Чому?

2. За даними табл. 1 побудуйте графік температурної залежності швидкості денітрифікації нітрат іонів у стічних водах.

Таблиця 1

T^0C	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
$V_{дн}(T)$	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,07
T^0C	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
$V_{дн}(T)$	0,07	0,08	0,08	0,09	0,10	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0,17
T^0C	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
$V_{дн}(T)$	0,17	0,18	0,20	0,21	0,23	0,25	0,28	0,30	0,33	0,36	0,39

Вкажіть якою функціє можна описати отриману емпіричну залежність? Визначте швидкість денітрифікації за температурою 20^0C.

Поясніть чому за умов зниження температури більш як на 15^0C відбувається зменшення швидкості відновлення нітриту?

3. Чому для деградації толуолу, ксилолу, хлорфенолу нітратами необхідна низька концентрація кисню у воді?

4. Відновіть реакцію денітрифікації органічних речовин бактеріями: оцтової кислоти

$$CH_3COOH + NO_3^- \rightarrow \ldots N_2 + \ldots CO_2 + \ldots H_2O + \ldots OH^-$$

етанолу

$$C_2H_5OH + \ldots NO_3^- \rightarrow \ldots N_2 + \ldots CO_2 + \ldots H_2O + \ldots OH^-$$

5. Який етап біологічного видалення азоту описують наведені вище рівняння?

6. Зробіть висновки.

Лабораторна робота №5.
Тема: “Розрахунок полів фільтрації, полів зрошення”

Мета роботи: отримати навички з виконання розрахунків очисних споруд біологічного призначення - полів фільтрації, полів зрошення.

Завдання:

1. Опрацьовування теоретичних аспектів відносно розрахунків очисних споруд - полів фільтрації, зрошення.
2. Ознайомлення з методологією розрахунків та СНІП за наведеними формулами.
3. Розв'язання задач за наведеним прикладом.
4. Самостійне розв'язування задач за вказаним варіантом.
5. Наведення порівняльної характеристики отриманих результатів досліджень з загальноприйнятими.

Теоретичні основи.

Поля зрошення – це спеціально підготовлені земельні ділянки, використовувані одночасно для очищення стічних вод і агрокультурних цілей. Очищення стічних вод у цих умовах проходить під дією ґрунтової мікрофлори, сонця, повітря і під впливом життєдіяльності рослин. У грунті полів зрошення знаходяться бактерії, актиноміцети, дріжджі, гриби, водорості, найпростіші і безхребетні тварини. Стічні води містять в основному бактерії.

У змішаних біоценозах активного шару ґрунту виникають складні взаємодії мікроорганізмів симбіотичного і конкурентного порядку. Кількість мікроорганізмів у ґрунті землеробських полів зрошення залежить від пори року. Узимку кількість мікроорганізмів значно менше, ніж влітку. Якщо на полях не вирощуються сільськогосподарські культури і вони призначені тільки для біологічного очищення стічних вод, то вони називаються полями фільтрації.

Землеробські поля зрошення після біологічного очищення стічних вод, зволоження і удобрення використовують для вирощування зернових і силосних культур, овочів, а також для посадки дерев і чагарників.

Землеробські поля зрошення мають наступні переваги перед аеротенками:

- знижені капітальні й експлуатаційні витрати;
- виключається скидання стоків за межі зрошуваної площі;
- забезпечується одержання високих і стійких врожаїв сільськогосподарських рослин;
- включаються у сільськогосподарський оборот малопродуктивні землі.

У процесі біологічного очищення стічні води проходять через фільтруючий шар ґрунту, у якому затримуються зважені і колоїдні частки, утворюючи в порах ґрунту мікробну плівку. Потім утворена плівка адсорбує колоїдні частки і розчинені в стічних водах речовини. Проникаючий з

повітря в пори кисень окисляє органічні речовини, перетворюючи їх у мінеральні сполуки. У глибокі шари ґрунту проникання кисню утруднене, тому найбільш інтенсивне окислювання відбувається у верхніх шарах ґрунту (0,2- 0,4 м). При нестатку кисню в ставках починають переважати анаеробні процеси. Поля зрошення краще влаштовувати на піщаних, суглинних і чорноземних ґрунтах.

Грунтові води повинні бути не вище 1,25 м від поверхні. Якщо ґрунтові води залягають вище цього рівня, то необхідно влаштовувати дренаж. Частину території землеробського поля зрошення відводять підрезервне поле фільтрації, тому що в деякі періоди року не проводять випускстічної води на поля зрошення.

Розрахунок полів фільтрації або зрошення проводять по середньодобовій нормі навантаження, тобто кількості стічних вод, що приходиться на 1га площі полів у середньому за добу протягом року.

Повну розрахункову площу полів фільтрації визначають:

$$Fф = Fф.кор. + Fф.рез. + kф.д.\cdot(Fф.кор + Fф.рез.),$$

де *Fф.кор*. – корисна площа полів фільтрації, га;

Fф.рез. – резервна площа полів фільтрації, дорівнює 10-25% від корисної площі *Fф.кор, га*;

kф.д. – коефіцієнт, що враховує збільшення площі у зв'язку з облаштуванням допоміжних споруд, для полів фільтрації *kф.д* = 0,25-0,30.

Повну розрахункову площу полів зрошення розраховують:

$$Fп.з. = Fз.кор. + Fз.рез. + kз.д.\cdot(Fз.кор + Fз.рез.),$$

де *Fз.кор*. – корисна площа полів зрошення, га;

Fз.рез. – резервна площа полів зрошення, га;

kз.д. – коефіцієнт, що враховує збільшення площі у зв'язку з облаштування допоміжних споруд, *kз.д* = 0,15-0,25.

Корисна площа для полів фільтрації:

$$Fф.кор. = Q/ qф,$$

де Q – середньодобова витрата стічних вод, ($м^3$/добу);

qф – навантаження стічних вод на поля фільтрації, що визначаються за СНіП 2.04.03-08 (*qф* = 235 $м^3$/га·добу).

Корисна площа для полів зрощення:

$$Fз.кор. = Q/ qз,$$

де *Q* – середньодобова витрата стічних вод, ($м^3$/добу);

qз – навантаження стічних вод на поля зрошення, що визначаються як середньозважена величина з навантажень на ділянки з різними видами сільськогосподарських культур (табл. 1.).

Таблиця 1

Норми навантаження побутових стічних вод на поля зрошення для районів із середньорічною висотою шару атмосферних опадів 300-500 мм

Середньорічна температура повітря, °С	Навантаження на поля зрошення в залежності від типу ґрунту, $м^3/(га·добу)$		
	суглинок	супісок	пісок
До 3.5	30/15	40 / 20	60 / 30
3.6 – 6	35/20	50 / 25	75 / 40
6.1 – 9.5	45 / 25	60 / 30	80 / 40
9.6 – 11	60 / 30	70 / 35	85 / 45
Понад 11	70 / 35	80 / 40	90 / 45

Примітка:

1) навантаження приведені у чисельнику для городних сільськогосподарських культур, у знаменнику – для польових;

2) для районів із середньорічною висотою шару атмосферних опадів 500-700 мм норми навантаження на полях зрошення зменшуються на 10-15%, а для районів із середньорічною висотою шару атмосферних опадів понад 700 мм – на 15-25%. Більший відсоток приймають для суглинків, менший – для пісків.

Оскільки, в деякий період року випуск стічної води на поля зрошення не допускається для прийому стічних вод на цей час служать резервні ділянки, що не зайняті під сільськогосподарські культури, які виконують роль звичайних полів фільтрації. Їхня площа розраховується за формулою:

$$Fз.рез. = a \cdot Q/qф,$$

де *a* – коефіцієнт, що враховує частину витрати стічних вод, що надходять на резервні ділянки (значення а для районів з середньорічною температурою повітря до 5; 10; 15ºС приймається відповідно 1; 0,75; 0,5);

qф – норма навантаження стічних вод на резервні поля фільтрації, приймається за СНіП 2.04.03-08 (*qф* = 235 $м^3$/га·добу).

В зимовий період часу, після промерзання ґрунту, фільтрація стічної води практично припиняється і починає поступове наморожування стічної води. Необхідна площа наморожування розраховується за формулою:

$$F_{нам} = Q \cdot t_{нам} \cdot (1-\beta) / (h_{нам} - h_{оп}) \cdot \rho \cdot 10^4$$

де $t_{нам}$ – тривалість періоду зимового наморожування, що визначається за СНіПом і складає відповідну кількість діб;

β – коефіцієнт зимової фільтрації, що залежить від фільтраційної здатності ґрунтів (для суглинків, супісків і пісків відповідно β= 0,3; 0,45; 0,55);

$h_{нам}$ – висота шару наморожування, що приймається не більше 1м, (0,5-0,6м);

$h_{оп}$ – шар зимових опадів, м;

ρ – щільність льоду, ρ = 0,9 т/м^3.

Для повного розрахунку споруд біологічного очищення стічних вод у природних умовах необхідно визначати характеристики їх дренажної системи, а саме кількість карт полів, витрати води на одну карту та водовідведення. А також визначення модулю стоку. Магістральний канал розраховують на загальну максимально секундну витрату, а розподільний канал розраховують на максимальну секундну витрату, що залежить від числа карт, які одночасно зрошують та примикають до даного розподільного каналу.

Число карт розраховується за формулою:

$$Nод= No.заг../ Nм.п.,$$

де *Nод* - загальна кількість карт;

тмп – період між поливами, призначається в межах 5-10діб в залежності від водно-повітряного режиму полів фільтрації чи зрошення, фільтраційної здатності ґрунтів та рівня ґрунтових вод.

Витрата води, що надходить на одну карту, залежить від максимальної секундної витрати q тах і розраховується за формулою:

$$q^1 = q_{max}/ Nод.$$

При несприятливих ґрунтових умовах на полях зрошення і фільтрації влаштовують осушувальну (водовідвідну) мережу, яка складається з дренажу, збірної мережі, відвідних ліній і випусків. Дренаж є важливим елементом полів в таких умовах. Він дозволяє вчасно відводити зайву вологу ґрунту і сприяє проникненню повітря в осушувальний шар, без чого не може проходити аеробний окисний процес.

Пристрій дренажу обов'язковий при заляганні ґрунтових вод на глибині менше 1,5м від поверхні ґрунту. Розрахунок дренажної мережі полів зрошення і фільтрації зводиться до визначення модулю стоку (витрати води, що повинна бути відведена з ділянки осушування) та висоти шару води, яку необхідно виводити дренажною мережею.

Модуль стоку розраховують за формулою:

$$q_{др}.= k_п \cdot q^1 \cdot t_{мп} \cdot k_{ом} \cdot 1000/ t_{др} \cdot 86400,$$

де $к_п$ – коефіцієнт просочування, що враховує поглинання води рослинами і випар с поверхні ґрунту, $к_п \approx 0,5$;

$k_{ом}$ – коефіцієнт нерівномірності надходження води в осушувальну мережу, $k_{ом} \approx 1,5$;

$t_{др}$ – тривалість відведення дренажної води з карти $t_{др} = (0,4\text{-}0,5) \cdot t_{мп}$, діб.

Висота шару води, яку необхідно виводити дренажною мережею, розраховують за формулою:

$$h_{від} = k_п \cdot q_ф \cdot t_{мп} \cdot k_{ом} / t_{др} \cdot 10^4 \text{ , м}$$

Приклад 1.1. Визначити повну розрахункову площу полів фільтрації розташованих в районі міста Києва, якщо середньодобова витрата стічних вод складає 5000 м/добу, навантаження стічних вод на поля фільтрації 235 м /га добу, зимовий шар опадів 75 мм, грунт на території поля пісок. Перевірити, чи забезпечує розрахункова площа пропуск стоків у період зимового наморожування протягом 30діб.

Варіант	Витрати $м^3$/доб	Навантаження м/га*доб	Висота шару опадів, мм	Середньорічна температура	Тип грунту
1	1200	180	45	3,5	Суглинок
2	1100	190	55	3,5	Супісок
3	1150	200	65	5	Пісок
4	1170	215	70	6	Суглинок
5	2000	223	75	8	Супісок
6	2100	245	80	10	Пісок
7	2150	250	85	11	Суглинок
8	2230	259	30	15	Супісок
9	2350	278	25	16	Суглинок
10	2400	289	29	18	Супісок
11	2500	295	15	20	Пісок
12	2560	300	90	21	Суглинок
13	2578	320	93	22	Супісок
14	2620	315	100	3,6	Пісок
15	2650	340	110	3,9	Суглинок
16	2700	365	115	7,9	Супісок
17	2758	336	120	8,8	Пісок
18	2858	339	125	4,5	Суглинок
19	3000	350	130	4,6	Супісок
20	3100	360	135	20	Пісок
21	3200	370	140	18	Суглинок
22	3300	400	145	15	Супісок
23	3700	420	150	19	Пісок

Розв'язання:

Повна розрахункова площа полів фільтрації:

$$Fф = Fф.кор. + Fф.рез. + kф.д.\cdot(Fф.кор + Fф.рез.)$$

Корисна площа полів фільтрації:

$$F_{ф\cdot кор.} = Q/ q_{ф.} = 5000 / 235 = 21,28(га)$$

Резервна площа полів зрошення:

$$F_{фрез} = 21,28 \cdot 0,175 = 3,724\ (га)$$

Коефіцієнт, що враховує збільшення площі у зв'язку з облаштуванням допоміжних споруд,

$к_{ф.д.} = 0,27$

$$F_ф = 21,28 + 3,724 + 0,27\cdot(21,28+3,724) = 31,88\ (га)$$

Площа наморожування

$$F_{нам} = Q \cdot t_{нам}\cdot(1-\beta) / (h_{нам} - h_{оп})\cdot\rho\cdot 10^4$$

$n_{нам}$ = 0,6м; β для пісків дорівнює 0,55; p = 0,9 т/м ;

$$5000 \cdot 30(1 \cdot 0,55) / (0,6 - 75 \cdot 10^{-3}) \cdot 0,9 \cdot 10^4 = 14,286\ (га)$$

Висновок: оскільки $F_{нам} < F_ф$, тому дана площа полів фільтрації зможе функціонувати протягом 30діб. Тобто $F_ф$ забезпечує пропуск стоків у зимовий період (задовольняє потребі проведення очищення стічних вод в кількості 5000 м/добу для м. Львова).

Приклад 1.2. Визначити повну розрахункову площу полів зрошення, зайнятих городніми культурами, що розташовані в районі міста Києва, якщо середньодобова витрата стічних вод складає 5000 м /добу, середньорічна температура повітря 7,6^{0}С, шар зимових опадів 75 мм, грунт – пісок. Перевірити, чи забезпечується розрахункова площа пропуск стоків у період зимового наморожування протягом 30 діб.

Розв'язання

Повна розрахункова площа полів зрошення:

$$Fф = Fф.кор. + Fф.рез. + kф.д.\cdot(Fф.кор + Fф.рез.)$$

Корисна площа для полів зрощення:

$$F_{ф\cdot кор.} = Q/ q_з = 5000/80 = 62,5\ га$$

Резервна площа для полів зрощення:

$$Fз.рез. = a\cdot Q/q_ф = 0,75\cdot 5000 /235 = 15,96\ (га)$$

$$F_{п.з} = 62,5 + 15,96 + 0,2\cdot(62,5 + 15,96) = 94,15(га)$$

Площа заморожування при $h_{нам}$ = 0,55м; β для пісків дорівнює 0,55; ρ = 0,9 т/м^3

$$F_{нам} = \frac{Q\cdot t_{нам}\cdot(1-\beta)}{(h_{нам} - h_{ОП})\cdot\rho\cdot 10^4} = \frac{5000\cdot 30\cdot(1-0,55)}{(0,55 - 75\cdot 10^{-3})\cdot 0,9\cdot 10^4} = 15,79(га)$$

Висновок: оскільки *Fнам* < *Fп.з,* тому дана площа полів зрошення зможе забезпечувати пропуск стоків у зимовий період протягом 30діб (задовольняє потребі проведення очищення стічних вод в кількості з 5000 м /добу для м. Львова)

Лабораторна робота №6.
Тема: “Визначення фітотоксичності важких металів на прикладі насіння зернових культур”

Мета роботи: визначення важких металів на прикладі насіння зернових культур.

Завдання: дослідити вплив важких металів на ріст та розвиток проростків кукурудзи.

Матеріали і реактиви: чашки Петрі для пророщування насіння; фільтрувальний папір; насіння кукурудзи; розчини солей важких металів: нітрати кадмію, плюмбуму, мангану концентраціями 1,25 і 2,5 мкмоль/л.

Теоретичні основи.

Важкими металами вважають метали з густиною понад 5 г/см. Ці сполуки надходять у рослини з ґрунтовим розчином. У незначних кількостях (як мікроелементи) вони необхідні рослинам, оскільки входять до складу біологічно активних речовин – ферментів, вітамінів, тощо, забезпечуючи нормальне функціонування рослин.

Так, зокрема молібден необхідний для азотфіксуючих бульбочкових бактерій, розміщених на коренях бобових культур. Значні концентрації важких металів негативно впливають на ріст і розвиток рослин, змінюючи навіть їхній зовнішній вигляд (розміри і форму стебла, листків, квітів, колір листків і квітів), що використовують у пошуках родовищ корисних копалин. Через трофічний ланцюг важкі метали ґрунту потрапляють у рослини, а потім споживаються тваринами і людиною.

За ступенем можливого негативного впливу важких металів забруднювачів на ґрунт, рослини, тварини та людину їх поділяють на три класи: високо-небезпечні, небезпечні та мало-небезпечні речовини (табл. 1).

Таблиця 1

Поділ на класи основних речовин, що називаються "важкими металами"

Класи небезпечності	Характеристика	Речовини ("важкі метали")
I клас	Високонебезпечні	Арсен, кадмій, ртуть, селен, свинець, кобальт, цинк, фтор
II клас	Небезпечні	Бор, кобальт, нікель, молібден, сурма, хром
III клас	Малонебезпечні	Барій, ванадій, манган, стронцій

Підвищений вміст важких металів у ґрунті є наслідком застосування у сільськогосподарському виробництві меліорантів, добрив та пестицидів, а також використання для зрошення забруднених побутових і промислових стічних вод. Локальне забруднення сільськогосподарських угідь важкими металами можуть спричинити транспортні засоби. Вздовж полів забруднення

9 зазнає придорожня смуга на відстані до 200 м із переважанням свинцю, що міститься в антидетонаційних присадках до бензину.

Максимальне забруднення ґрунтів спостерігається на відстані 7-10 м від дороги, а в зоні 30-80 м відмічається зниження врожайності та погіршення якості сільськогосподарської продукції. Істотним недоліком мінеральних добрив є наявність баластних речовин (токсичних елементів і сполук) (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст важких металів у складі мінеральних добрив, г/т діючої речовини (А.Є.Басманов, А.В. Кузнєцов, 1990)

Добрива	Мідь (Си)	Цинк (Zn)	Кадмій (Cd)	Свинець (Pb)	Нікель (N1)	Хром (Cr)
Азотні	51	63	1,23	21	6,83	0,38
Фосфорні	127	164	3,0	34	92	121
Калійні	9,4	20	1,05	28	9,1	0,89
Всі мінеральні добрива	59	77	1,62	26	30	33

Важкі метали забруднюють не лише ґрунти. Близько 40% важких металів та їх похідних потрапляє із ґрунту у підґрунтові води, що збіднює видовий склад рослин, знижує темпи їх росту та розвитку, різко зменшується схожість насіння культурних та дикорослих видів, також гине трав'яний покрив і лісові

Таблиця 3

Фонові та граничнодопустимі концентрації важких металів у ґрунті

Назва речовини	Фонова концентрація у ґрунті, мг/кг	Гранично допустима концентрація у ґрунті, мг/кг
Кадмій (Cd)	0,5	3,0
Свинець (Pb)	10	32
Цинк (Zn)	50	100
Мідь (Cu)	20	55
Хром (Cr)	75	100
Нікель (N1)	40	85
Кобальт (Co)	8	50
Фтор (F)	200	330

На думку О. Виноградова, мікроелементи містяться в деревині у вигляді "повітряних мігрантів" (98,8%) – 70% О, 18% С, 10,5% Н, 0,3%; "водних мігрантів" (1,2%) – Са, К, Мо, Р, F, N3, CI, Fe (разом узяті). Мікроелементи (36 "водних мігрантів") становлять соті частки відсотка деревини.

Таблиця 4

Усереднені коефіцієнти стійкості ґрунтів щодо важких металів

Коефіцієнт стійкості (кЛ, безрозмірна величина							
Ґрунтово-кліматична зона	Свинець (Pb)	Кадмій (Cd)	Фтор (F)	Цинк (Zn)	Мідь (Cu)	Нікель (N1)	Кобальт (Co)
Полісся	0,32	0,16	0,83	0,34	0,12	0,35	0,11
Лісостеп	0,71	0,53	0,42	0,74	0,56	0,68	0,50
Степ	0,73	0,60	0,25	0,78	0,68	0,76	0,52

Хід роботи

Насіння кукурудзи пророщують і поміщають для подальшого росту у розчинах солей важких металів, заздалегідь вимірявши довжини корінців і стебел та пронумерувавши чашки Петрі. Контрольні рослини вирощують на дистильованій (або водопровідній) воді. Через тиждень вимірювання повторюють, а отримані результати занотовують у таблицю:

Таблиця 5

Характеристика насіння кукурудзи, обробленого розчинами важких металів

Характеристика рослин	Контроль	Концентрація розчинів, мкмоль/л					
		$Pb(NO_3)_2$		$Cd(NO_3)_2$		$Mn(NO_3)_2$	
		1,25	2,5	1,25	2,5	1,25	2,5
Довжина корінців							
Довжина стебел							

На основі отриманих даних графічно зображають криві росту корінців і стебел кукурудзи у розчинах солей різних важких металів залежно від їх концентрації. Чи існують відмінності у рості рослин за різного якісного складу металів?

Лабораторна робота №7.
Тема: “ Виділення мікроорганізмів з грунту. Вплив антропогенних факторів на мікрофлору грунту”

Мета роботи: визначення кількості мікроорганізмів у пробах грунту та ознайомлення з впливом антропогенних факторів на його мікрофлору.

Завдання:

1. Визначити загальну кількість КУО в 1 г грунту.
2. Прослідкувати зміни мікробних пейзажів в модельних дослідах під впливом збільшення доз важких металів за допомогою методу скелець обростання.

Матеріали і реактиви: стерильні чашки Петрі, колби з 99 мл стерильної водопровідної води, пробірки з 9 мл стерильної води, стерильні піпетки на 1 мл, МПА, СА, ваги, різноважки, папір для зважування, шпателі, грунт, предметні скельця, три банки, глюкоза, $CuSO_4$ або $ZnSO_4$, фуксин, мікроскоп.

Теоретичні основи.

І. Виділення мікроорганізмів з грунту.

Одним із найсприятливіших середовищ для існування мікроорганізмів є грунт. Кількісний і якісний склад мікрофлори грунтів залежить від їх хімічного складу, фізичних властивостей, вмісту вологи й повітря, кліматичних умов, пори року, характеру рослинного покриву, антропогенного впливу та багатьох інших факторів.

До складу мікрофлори грунту входять амоніфікуючі, нітрифікуючи, денітрифікуючі, азот фіксуючі, целюлозолітичні, сірко- та залізобактерії, актиноміцети, гриби та ін. У верхніх шарах грунту також можуть міститись збудники правцю, газової гангрени, кишкових інфекцій, наприклад, дизентерії, коліентериту, черевного тифу, холери та ін. Грунт є головним джерелом надходження мікроорганізмів у інші середовища, зокрема у повітря та воду.

Для вивчення та обліку мікрофлори грунту найчастіше проводять поверхневий висів (газоном) грунтової суспензії на щільні поживні середовища. При правильному виборі середовищ є можливість дослідити різні групи мікроорганізмів, що заселяють грунт (бактерії, актиноміцети, гриби та дріжджі), оцінити кількісний та якісний склад мікрофлори та провести виділення чистих культур (при необхідності). Чисті культури – це популяція мікроорганізмів одного виду. Накопичувальні ж культури містять тільки переважно клітини одного виду.

Суть методу висіву полягає в нанесенні грунтової суспензії на поверхню поживних середовищ. Клітини, які потрапили в оптимальні умови для росту, утворюють на поверхні середовища колонії, які видимі неозброєним оком. При проведенні кількісного обліку, як правило, вважають, що кожна колонія утворюється в результаті поділу однієї клітини. Для характеристики мікрофлори грунту найбільш широко вживаними є такі середовища:

1. Середовище Чапека – для виділення грибів та актиноміцетів;

2. Середовище Ешбі – для виділення олігонітрофільних бактерій та деяких дріжджів;

3. Крохмально-аміачне середовище – для виділення актиноміцетів і бактерій;

4. МПА та розведений МПА – для виділення бактерій;

5. Агаризоване сусло або синтетичні середовища (Сабуро, глюкозо-амонійне) – для виділення дріжджів;

6. Картопляний агар (КА) – для виділення фітопатогенних бактерій;

7. Голодний агар;

8. Грунтовий агар Локхіда та ін. Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей бактерій, а також визначення видової приналежності необхідно проводити на чистих культурах мікроорганізмів.

Виділення чистих культур мікроорганізмів – основа мікробіологічної практики.

Метод штриха, що виснажується є найбільш вживаним для одержання чистих культур мікроорганізмів. Суть цього методу полягає у тому, що досліджуваний матеріал розподіляють штрихами на поверхні поживного середовища в чашці Петрі. З кожним наступним штрихом матеріал, який знаходиться на петлі, поступово виснажується, зменшується кількість висіяних клітин, і, в кінцевому рахунку, можна отримати ізольовані колонії. Посівний матеріал можна наносити на поверхню середовища зигзагом, сіткою або Тподібним штрихом (рис. 1).

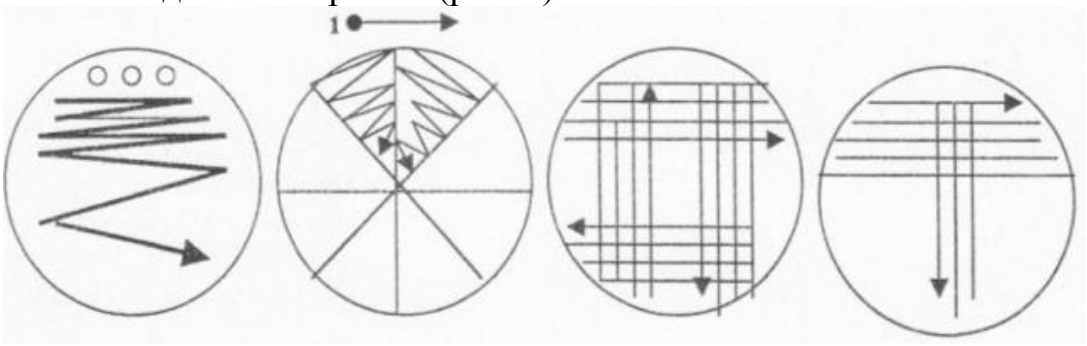

Рис.1. Схема посіву методом штриха, що виснажується

Хід роботи І:

1. Відбір проби грунту для аналізу. Грунт і мікрофлора грунту дуже гетерогенні, тому необхідно відібрати по можливості більш однорідну пробу з поверхневих шарів стерильними копачками, з глибини спеціальними бурами. З поверхні дослідної ділянки зсунути рослинні рештки і 0,5-1 см верхнього шару грунту. По діагоналі ділянки або в чотирьох різних кутах відібрати проби і добре перемішати.

Загальна маса проби повинна бути не менша 1 кг. Грунт пересіяти через сито з діаметром отворів 2 мм. Якщо грунт дуже вологий, то він не сіється. В цьому випадку його висипати на папір, і підсушити на повітрі. Ні в якому разі грунт, підготовлений до мікробіологічного аналізу, не висушувати повністю, тому що це істотно впливає на його мікрофлору.

2. Виготовлення ґрунтової суспензії для посіву. Перед посівом з грунту вибрати дрібні корінці, різні сторонні включення. Зважити 1 г грунту і висипати в колбу з 100мл стерильної води. Закриту ватним тампоном колбу струшувати на качалці протягом 5хв, зачекати 30 секунд, щоб осіли грубі частки грунту і зробити наступні розведення, користуючись постійним коефіцієнтом розведення, що дорівнює 10.

3. Виготовлення розведень. Виготовлення розведень необхідне для одержання ізольованих клітин. Розведення зробити в стерильній водопровідній воді. В пробірки налити по 10мл (після стерилізації залишається по 9мл води). В колбу до 100 мл води додати 1 г грунту, тоді розведення буде 1:100. Новою стерильною піпеткою добре перемішати суспензію, набираючи і видуваючи її з піпетки, потім цією піпеткою набрати 1мл суспензії і перенести в пробірку з 9 мл стерильної води. Одержати розведення 1:1000 (або 10-3). Аналогічно перенести 1мл суспензії з першої пробірки в другу і т.д., кожного разу користуючись новою стерильною піпеткою. Зазвичай готують розведення до 1:1000000 або 10^{-6} (рис. 2).

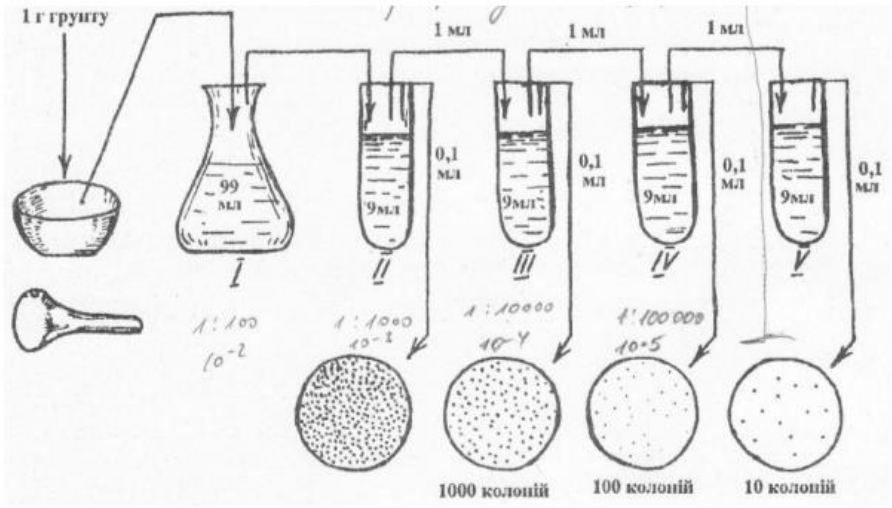

Рис. 2. Схема виготовлення розведень і посіву

Одночасно визначити вологість грунту. Для цього використати чисті алюмінієві бюкси, попередньо висушені при 105°С протягом 24 год і зважені. Накласти в бюкси приблизно 10 г грунту і зважити. Висушити бюкси в сушильній шафі при 105°С протягом 3-5 годин до постійної ваги і знову зважити. Вологість грунту обчислити за формулою (1):

$$W= (P_1- P_2)x\ 100/P_2- P$$

де W – вологість, %,
P – вага бюкса,
P_1 – вага грунту разом з бюксом до висушування,
P_2 – вага грунту разом з бюксом після висушування,
Поправку на вологість обчислити за формулою (2):

$$K =100+\ W\ /100,$$

де К – поправка на вологість.

4. Посів в чашки Петрі на агаризоване середовище.

Посів зробити з трьох послідовних розведень так, щоб на одній чашці виросли десятки, на другій – сотні, а на третій – ще більше колоній. В більшості випадків посів на відповідні середовища для визначення кількості бактерій роблять з 4-5 розведень, актиноміцетів – з 3-5, грибів – з 2-4 розведень. Посів з кожного розведення зробити в 2-5 повтореннях. Висівати суспензію можна поверхневим або глибинним способами.

Поверхневий посів: на поверхню живильного агару нанести 2 краплі (0,1 мл) ґрунтової суспензії і рівномірно розподілити її по всій поверхні агару за допомогою стерильного скляного шпателя.

Глибинний посів: на дно стерильної чашки Петрі стерильно внести 1мл суспензії відповідного розведення. Розплавлений агар охолодити до 45-50°С і по 10-20 мл налити у чашки Петрі, дотримуючись правил асептики. Обережно і старанно перемішати агар з суспензією, обертаючи чашку по поверхні столу до застигання середовища Засіяні чашки Петрі помістити в термостат кришками донизу. На кришці восковим олівцем написати номер розведення, групу, прізвище студента.

5. Підрахунок колоній на чашках Петрі.

Колонії бактерій необхідно підрахувати через 3 доби, колонії грибів – через 2-7, а колонії актиноміцетів – через 7-15 діб інкубації в термостаті. Колонії слід рахувати, не відкриваючи чашку Петрі. Підрахунок проводити на тих розведеннях, при посіві яких виросло від 15 до 150 колоній бактерій і актиноміцетів, 30-50 колоній грибів. Якщо колоній багато, то дно чашки Петрі поділити на чотири сектори і рахувати кількість на секторах, а потім перерахувати на всю площу.

Підрахувавши кількість колоній на всіх паралельних чашках, знайти середнє значення для однієї чашки і за формулою обчислити кількість мікроорганізмів в 1 г сухого грунту: Загальну кількість КУО в 1 г грунту визначають за формулою (3):

$$a = \frac{б \cdot в \cdot 1000}{д \cdot г}$$

де а – кількість клітин в 1 г грунту;

б – середня кількість колоній з однієї чашки Петрі;

в – розведення, з якого було зроблено висів;

г – об’єм суспензії, який вносили на поживне середовище;

д – вага грунту, який брали для аналізу.

Для виділення чистої культури необхідно: вибрати варіант методу виснаженого штриха, яким буде здійснюватися посів; підготувати чашку Петрі для посіву (підписати, при необхідності позначити сектори); стерильною петлею відібрати посівний матеріал з обраної колонії. посіяти відібраний матеріал на середовище, дотримуючись правил асептики.

II. Вплив антропогенних факторів на мікрофлору грунту Перетворюючи органічні і мінеральні сполуки, які надходять у грунт, мікрофлора забезпечує собі відносну постійність умов існування (гомеостаз).

Антропогенні фактори, змінюючи екологічний стан, можуть стимулювати або пригнічувати життєдіяльність організмів у грунті. Після внесення певних енергетичних речовин при окультуренні в грунті починають розмножуватись види, які їх використовують. Несприятливі антропогенні фактори, наприклад, іони важких металів, зменшують видову різноманітність мікрофлори і її біохімічну активність.

Для спостереження за природними угрупованнями мікробів в грунті видатний мікробіолог М.Г. Холодний запропонував кілька екологічних методів. Одним з найпростіших є якісний метод контактних скелець або скелець обростання. Цей метод дав вперше можливість спостерігати мікробні угруповання в природних умовах, які М.Г. Холодний назвав «природним ландшафтом ґрунтової мікрофлори» або «мікробним пейзажем».

При проведенні досліджень скельця закопують в природні грунти, де знаходяться важкі метали в малих кількостях. Так, в дерново-підзолистому грунті містяться (мг/100 г грунту): Zn – 0,4; Ni – 0,1; в сірому лісовому Zn – 1,2; Ni – 1,1. В певних місцевостях спостерігають забруднення важкими металами.

Хід роботи II:

Зважити три наважки грунту по 200 г кожної і додають до них:

1) контроль (без нічого).

2) органічну речовину – 2 г глюкози.

3) 2 г глюкози та 80 мг $CuSO_4$ або 120 мг $ZnSO_4$.

Ретельно перемішують грунт і органічні речовини, зволожити і помістити у три банки.

Чисті предметні скельця (попередньо витримані 2 доби в конц. розчині H_2SO_4, добре відмиті дистильованою водою) закладають вертикально по два в кожну банку на відстані 3 см одне від одного так, щоб 2 см кожного скла залишалось над поверхнею грунту. Скельця добре притискають до грунту.

Через 7 днів обережно витягають по одному склу з кожної банки так, щоб не пошкодити її поверхні. Одну сторону скелець витирають чистим фільтрувальним папером. Скельця підсушують на повітрі, фіксують над полум’ям. Охолоджене скло обережно відмивають від більших частинок грунту, фарбують фуксином і розглядають під імерсією, замальовують мікробний пейзаж. Порівнюють зміни мікробних пейзажів в різних варіантах досліду.

Лабораторна робота №8.
Тема: “Визначення актуальної кислотності ґрунтів ”

Мета роботи: визначення актуальної кислотності ґрунтів.

Завдання:

Матеріали і реактиви: pH-метр або іонометр, мірний циліндр, колби, піпетки, дистильована вода, зразки грунту.

Теоретичні основи.

Визначення реакції ґрунтів належить до найпоширеніших аналізів як у теоретичних, так і в прикладних дослідженнях. Найбільш повна картина кислотних і основних властивостей ґрунтів складається при одночасному вимірі декількох показників, у тому числі титруючої кислотності або лужності – фактор ємності й величини pH – фактор інтенсивності.

Фактор ємності в цьому випадку характеризує загальний вміст кислот або основ у ґрунтах, від нього залежать буферність ґрунтів, стійкість реакції у часі й стосовно зовнішніх впливів. Фактор інтенсивності характеризує силу миттєвої дії кислот або основна ґрунті і рослині: від нього залежить надходження мінеральних речовин у рослини в даний відрізок часу.

Це дозволяє дати найбільш правильну оцінку кислотності ґрунтів, тому що в цьому випадку враховується загальна кількість іонів водню й алюмінію, що перебувають у ґрунті у вільному й поглиненому станах. Ця форма кислотності обумовлена вмістом вільних іонів водню в ґрунтовому розчині й виміряється за показником pH водної витяжки із ґрунту. Цей вид кислотності безпосередньо діє на кореневу систему рослин і на ґрунтові мікроорганізми.

Визначення актуальної кислотності ґрунту необхідно для з'ясування можливості впливу на ґрунт різних форм, доз і сполук добрив, а також підбора культур у сівозмінах. Однак pH водної витяжки – показник нестійкий, що часто змінюється під дією різних факторів протягом навіть одного вегетаційного періоду.

На технічних вагах взяти наважку ґрунту масою 20 г і помістити в колбу на 200-250 $см^3$. Долити циліндром 50 $см^3$ дистильованої води. Збовтувати на ротаторі протягом 1 год. У суспензії або фільтраті визначити значення pH електрометричним методом. Визначення pH сольової витяжки за методом ЦИНЛО (ДЕРЖСТАНДАРТ 26483).

Хід роботи.

Сутність методу полягає у вилучені обмінних катіонів із ґрунту розчином хлористого калію (концентрація 1 моль/$дм^3$) при співвідношенні ґрунту й розчину 1 до 2,5 і потенціометричному визначенні pH із використанням скляного електроду. При визначенні pH у пробах органічних горизонтів ґрунтів витяжку готовлять при співвідношенні ґрунту й розчину 1:25.

Приготування витяжки. Пробу ґрунту (у повітряно-сухому стані, пропущеної через сито з діаметром отворів 1 - 2 мм) масою 30 г зважують на

технічних вагах з погрішністю не більше 0,1 г і пересипають у конічну колбу. До проб дозатором або циліндром доливають 75 $см^3$ екстрагованого розчину. Одночасно проводять холостий дослід без проби ґрунту. Ґрунт з розчином перемішують протягом 1 хв.

При визначенні pH у пробах органічних горизонтів ґрунтів відбирають наважку масою 4 г, додають до неї 100 $см^3$ екстрагованого розчину й перемішують суспензію протягом 3 хв. Після проведення настроювання pH-метру або іонометра по трьох буферних розчинах із pH 4,01; 6,86; 9,18 електроди занурюють у суспензію й вимірюють величину pH. Показник приладу знімають не раніше, ніж за 1 хв після занурення електродів у суспензію.

Під час роботи настроювання приладу періодично перевіряють по буферному розчині із pH 4,01. Після виміру pH суспензію залишають на 18 - 24 год, потім перемішують на електромеханічній мішалці протягом 1 хв і фільтрують через паперові фільтри. Першу мутну порцію фільтрату об'ємом 10-15 $см^3$ відкидають. Допускається замість настоювання проб ґрунтів з розчином хлористого калію проводити перемішування суспензій на качалці або ротаторі протягом 1 год.

Фільтрати використовуються для наступного аналізу (визначення обмінної кислотності, обмінного алюмінію, а також нітратів, обмінного амонію, рухливої сірки, обмінного марганцю, обмінного кальцію й обмінного (рухливого) магнію по методах ЦИНАО).

За результат аналізу приймають значення одиничного визначення pH зі шкали приладу з точністю не нижче 0,1 одиниці pH.

Лабораторна робота №9.
Тема: “Визначення забруднення пестицидами кормів методом тонкошарової хроматографії”

Мета роботи: ознайомлення з видами отруєнь і виявлення різних ознак інтоксикації організму.

Завдання: розрахувати летальні, середньосмертельні і смертельні дози токсичної речовини та дослідити основні методи детоксикації організму.

Матеріали і реактиви: хлороформ, рухомий розчинник н-гексан – ацетон, 1% резорцин і 10% КОН. Зразки трави, силосу та інших видів кормів. Матеріали і обладнання: №01, хлороформ, рухомий розчинник н-гексан - ацетон, 1% резорцин і 10% КОН. Зразки трави, силосу та інших видів кормів. Класифікатор речовин за їх небезпечністю.

Теоретичні основи.

Об'єктом згубного впливу на біоценози є токсиканти, які реалізують свою дію через вплив на біологічні організми у довкіллі. Токсикантом є чинник з притаманними лише йому фізичними, хімічними, фізико-хімічними та медико-біологічними властивостями, які викликають патологічні зміни до розвитку незворотних уражень органів чи екологічних систем.

Під час проведення екотоксикологічних досліджень встановлено основні показники токсичності можливого шкідливого впливу потенційного токсиканту, до яких належить:

- гранично-допустима концентрація (ГДК) – норматив, що регламентує безпечне для людини забруднення довкілля токсикантами і є критерієм оцінки стану повітря робочої зони, атмосфери, води, ґрунту та продуктів харчування;
- орієнтовно-безпечний рівень впливу токсиканту у повітрі та воді визначається розрахунковим методом на 2-3 роки;
- допустимі залишкові кількості токсикантів у харчових продуктах – максимальна кількість речовин, надходження яких в організм упродовж всього життя не викликає жодних порушень здоров'я людини.

Хід роботи

Принцип методу заснований на витяжці препарату із проби водою та подальшим вилученням із води органічним розчинником, хроматографованим у тонкому шарі.

Із можливо забруднених зразків (трава, силос та ін.) беруть наважку 20 г, збовтують протягом 20 хв в 100 мл дистильованої води. Другий раз екстрагують в 70 мл води. Водні розчини об'єднують у розподільчій воронці, додаючи 1 г повареної солі, екстрагують три рази хлороформом по 50 мл, витяжки обезводнюють безводним сірчанокислим натрієм, фільтрують і випарюють.

Сухий залишок розчиняють у 0,2-0,5 мл хлороформу, наносять на пластинку і хроматографують. Край пластинки з нанесеними розчинами повинен бути занурений у розчинник (бензол) не більш, ніж на 0,5 см. Після того, як фронт розчинника підніметься на 10 см, пластинку виймають із камери і залишають на кілька хвилин для випаровування розчинника.

Таблиця 1.

Показники токсичності

Показник токсичності	Норма для класу небезпечності			
	I. Надзвичайно небезпечні	II. Високо-небезпечні	III. Помірно-небезпечні	IV. Мало-небезпечні
ГДК в робочій зоні, мг/м	< 0,1	0,1-1,0	1,1-10,0	> 10,0
Середня смертельна доза, мг/кг при введенні в шлунок надшкірна	< 15 < 100	15-150 100-500	151-5000 5001-25000	>5000 >2500
Середня смертельна концентрація, мг/м^3	< 500	501-5000	5001-50000	> 50000

Пластинку знову помішують у камеру для хроматографування з рухомим розчинником (суміш гексана з ацетоном 1:1) і проводять хроматографування, як вказано вище. Висушену пластинку обприскують проявляючим розчином.

Контрольні питання

1. Охарактеризуйте температуру як екологічний фактор. Яке значення вона відіграє в процесі життєдіяльності організмів?

2. Що таке іонізуюче випромінювання? Що ви знаєте про природний радіаційний фон Землі? З чого він складається?

3. Які основні ознаки симбіотичних взаємозв'язків? Яку користь дають тваринам мікроорганізми – симбіонти?

4. Як впливають на існування організму відхилення від оптимуму факторів (мінімум і максимум)?

5. Які показники використовують для характеристики біогеоценозу?

6. Які ознаки біогеоценозу обов'язкові для екосистеми?

7. Які найтиповіші природні угруповання зустрічаються у вашій місцевості?

8. Які взаємозв'язки існують між основними складовими частинами екосистеми?

9. Чим зумовлена наявність меж біосфери? Які ви знаєте компоненти біосфери?

10. Як відбувається кругообіг речовин у біосфері? Якими є біосферні функції людини?

11. В які групи можна об'єднати природі антропогенні фактори?

12. Опишіть класифікацію антропогенних факторів за їх природою.

13. Як класифікуються антропогені фактори за їх природою?

14. Як класифікуються антропогені фактори за тривалістю дії?

15. Як класифікуються антропогені фактори за їх здатністю до міграцій?

16. Як класифікуються антропогені фактори за стійкістю викликаних ними змін у навколишньому середовищі?

17. Опишіть суть парникового ефекту.

18. Охарактеризуйте явище кислотних дощів.

19. Метою розробки концепції забезпечення екологічної безпеки і підтримання екологічної рівноваги на території країни є … .

20. Який зв'язок між концентраціями шкідливих викидів у атмосферу міст і захворюванністю населення на даний час встановлений?

21. Які методи використовуються для знешкодження ксенобіотиків?

22. У чому полягає екологічність процесу біоочищення навколишнього середовища?

23. Які існують мікробіологічні особливості біодеградації пестицидів?

24. Яким чином відбувається біодеградація відходів за участю хемосинтезуючих бактерій?

25. Які існують методи біоочищення об'єктів довкілля від нафтових забруднень?

26. Від яких чинників залежить антагоністична активність мікроорганізмів?

27. Вкажіть фактори видалення ксенобіотиків з навколишнього середовища.

28. Як здійснюється біодеградація ксенобіотиків?

29. В чому полягає перевага бактеріального очищення довкілля порівнянно з хімічними методами?

30. В чому полягають екологічні переваги біодеструкції шкідливих речовин?

31. Дати визначення, що таке біогеотехнологія.

32. У якому столітті зародилася біогеотехнологія?

33. Якою датою вважають зародження біогеотехнології як науки?

34. Що таке біогеотехнологія вилуговування металів?

35. Які мікроорганізмізми застосовують при вилуговування металів?

36. Що являє собою біогеотехнологія десульфурування вугілля?

37. Яка роль біогеотехнології у боротьбі з метаном у вугільних шахтах?

38. Назвіть метаноксилюючі бактерії.

39. Які групи мікроорганізмів використовують для збільшення вторинного видобутку нафти?

40.Чи пов’язана біогеотехнологія з геологічною мікробіологією?

41. Які основні показники біохімічного очищення стічних вод?

42. Охарактеризуйте принципи біологічного очищення промислових та побутових стічних вод?

43. На яких біотехнологічних процесах базується біоочищення стічних вод?

44. Які речовини-забруднювачі можуть міститись у промислових і побутових стічних водах?

45. Які біохімічні процеси лежать в основі біоочищення стічних вод?

46. Які групи мікроорганізмів зазвичай заселяють біоценози очисних споруд?

47. Які фізіологічні особливості представників біоценозу використовують у системі біоочищення стічних вод?

48. Від яких факторів залежить ефективність аеробних методів очищення стічних вод?

49. Який принцип та яка ефективність анаеробних методів очищення стічних вод?

50. Чим відрізняється процес амоніфікації стічних вод від їхньої денітрифікації?

51. З якими функціями ремедіантів пов’язана екологічна ремедіація забруднених ґрунтів?

52. Охарактеризуйте концептуальну модель диференціації відомих методів ремедіації забруднених важкими металами ґрунтів.

53. Який базовий принцип лежить в основі методів біоремедіації?

54. Які Ви знаєте способи, запатентовані в Україні, біоремедіації забруднених ґрунтів?

55. Який метод використовують щодо точного, селективного, експресного визначення вмісту важких металів, пестицидів і гербіцидів у водних розчинах різних об’єктів довкілля?

56. Опишіть суть використання біологічних поверхнево-активних речовин для захисту від токсичності Cd у ґрунті.

57. Охарактеризуйте суть електрокінетичної активізації біодеградації полютантів у грунті.

58. Що забезпечує ультразвук для активізації біодеградації?

59. Опишіть суть природної та штучної фіторемедіація.

60. Які основні методи використовує фіторемедіація за способами впливу на забруднювач ґрунту?

61. Які мікробіологічні особливості компостування органічних відходів?

62. Які біохімічні особливості компостування органічних відходів?

63. Які групи живих організмів беруть участь у процесі компостування?

64. З яких основних компонентів складаються рослинні відходи?

65. Які компоненти входять до складу компосту, утвореного з органічних відходів?

66. Які біохімічні перетворення відбуваються в органічних відходах під час компостування та яка динаміка цього процесу?

67. За яких умов відбувається процес компостування органічних відходів?

68. У чому полягає природоохоронний ефект компостування органічних відходів?

69. Яка екологічна роль гумінових кислот у забезпеченні родючості ґрунтів?

70. Основна роль у мінералізації органічних речовин, яка забезпечує самоочищення грунту належеть … .

71. Яким чином можна визначити біопрепарати або біопрепаративні форми?

72. Що являють собою біодобрива?

73. Назвіть принципи застосування біопрепаратів в агропромисловій галузі.

74. Які екологічно безпечні способи захисту сільськогосподарських рослин є альтернативою пестицидам?

75. У чому полягає екологічна безпечність біопрепаратів та біодобрив?

76. На основі яких популяцій мікроорганізмів виготовляються біопрепарати?

77. Які перспективи використання біопрепаратів і біодобрив у практиці АПК?

78. Які існують екологічні переваги застосування біопрепаратів та біодобрив, на відміну від пестицидів?

79. Які біологічні способи збагачення ґрунту азотом використовуються в сільському господарстві?

80. Охарактеризуйте принцип фіксування азоту ґрунтовими мікроорганізмами?

Рекомендована література

Базова

1. Новітні принципи відновлення порушених промисловістю екосистем у межах виконання кластерної інноваційної програми НАН України “Родючість грунтів” / А.П. Травлєєв, В.М. Зверковський, Н.А. Белова [та ін.] // Екологія та ноосферологія. – 2011 – Т. 22, № 3–4. – С. 28–34.

2. Бондар О.І. Антропогенні чинники довкілля та їх вплив на біоту і здоров’я людини: Підручник / О.І. Бондар, О.І. Тимченко, О.Г. Тараріко та ін. За заг. ред. О.І. Бондаря. – К.: Інрес, 2006. – 288 с.

3. Шерстобоєва О. В. Роль мікробіологічних препаратів у підвищенні продуктивності рослин екологічно безпечними засобами // Физиол. биохим. культ. растений. - 2004. -Т. 36, № 3. — С. 229–238.

4. Дульгеров О. М. Біотехнологічна рекультивація ґрунтів, забруднених нафтопродуктами при аварійних розливах / О. М. Дульгеров, Т. Л. Качур, А. Ю. Нудьга, М. М. Мовчан // Екологічні проблеми нафтогазового комплексу: Матеріали наук.-прак. конф. (Яремче, Івано-Франківська обл., 23–27 лютого 2004 р.). – К.: Тов-во «Знання України», 2003. – С. 136-138.

5. Сохранение и восстановление биоразнообразия [Флинт В.Е., Смирнова О.В., Ханина Л.Г., Бобровский М.В., и др.] М.: Издательство научного и учебно-методического центра, 2002. – 286 с.

Додаткова

1. Бейли Дж., Оллис Д. Основы биохимической инженерии. В 2-х частях. М.: Мир, 1989.

2. Промышленная микробиология / Под ред. Н.С. Егорова - М.: Высш. шк., 1989.- 688 с.

3. Громов Б.В., Павленко Г.В. Экология бактерий. - Л.: Изд-во Ленинградского уни-верситета, 1989.- 248 с.

4. Небел Б. Наука об окружающей среде: Как устроен мир. В 2-х тт.- М.: Мир, 1993, т.1 - 424с., т.2 – 336 с.

5. Телитченко М.М., Остроумов С.А. Введение в проблемы биохимической экологии. – М.: Наука, 1990.

6. Карасевич Ю.Н. Основы селекции микроорганизмов, утилизирующих синтетические органические соединения. – М.: Наука, 1982.- 144с.

7. Биотехнология. Принципы и применение. / Под ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. – М. Мир, 1988. - 480 с.

8. Карюхина Т.А., Чурбанова И.Н. Химия воды и микробиология. – М.: Стройиздат, 1983.-168с.

9. Яковлев С.В., Скирдов И.В., Швецов В.Н. и др. Биологическая очистка производственных сточных вод: Процессы, аппараты и сооружения. – М.: Стройиздат, 1985. – 208с.

10. Яковлев С.В., Карюхина Т.А. Биохимические процессы в очистке сточных вод активным илом. – М.: Наука, 1979. – 119 с.

11. Винаров А.Ю., Садыров О.А., Лобанов Ф.И. Очистка и дезодорация промышленных газов с помощью микроорганизмов./ Итоги науки и техники. Серия Биотехнология, т.27. – М.: Изд-во ВИНИТИ АН СССР, 1989. – 184 с.

ЗМІСТ

Методичні поради щодо організації і проведення лабораторних робіт 1
Правила техніки безпеки під час роботи в лабораторії 3
Лабораторна робота №1. Тема: “Бактеріологічні дослідження води та повітря” 4
Лабораторна робота №2. Тема: “Роль води в процесах життєдіяльності одноклітинних організмів” 8
Лабораторна робота №3. Тема: “Біотестування фітотоксичності речовин, що містяться у воді або ґрунті” 10
Лабораторна робота №4. Тема: “Біологічне видалення азоту з осаду стічних вод” 13
Лабораторна робота №5. Тема: “Розрахунок полів фільтрації, полів зрошення” 15
Лабораторна робота №6. Тема: “Визначення фітотоксичності важких металів на прикладі насіння зернових культур” 21
Лабораторна робота №7. Тема: “ Виділення мікроорганізмів з грунту. Вплив антропогенних факторів на мікрофлору грунту” 24
Лабораторна робота №8. Тема: “Визначення актуальної кислотності ґрунтів ” 29
Лабораторна робота №9. Тема: “Визначення забруднення пестицидами кормів методом тонкошарової хроматографії” 30
Контрольні питання 33
Рекомендована література 36