

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ЗАОЧНОЇ
ТА ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

Допускається до захисту
“ _____ ” _____ 2023 р.

Зав. кафедри _____
(підпис)

к.б.н. П.Р.Хіпівський
(наук.ступ., вчене звання, ініціали та прізвище)

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

Бакалавр

на тему: «Ферментативна активність заплавлених ґрунтів річки
Західний Буг, як індикатор накопичення важких металів»

Виконав студент 4 курсу

Групи ЕКО-51

Спеціальності 101 «Екологія»

Ребець Василь Миколайович

Керівник _____ Р.С. Шкумбатюк

Консультант _____ Ю.О.Ковальчук

Дубляни - 2023

Міністерство науки і освіти України
Львівський національний університет природокористування

ННІ заочної та післядипломної освіти
Кафедра екології
Рівень вищої освіти «бакалавр»
Спеціальність 101 «Екологія»

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Завідувач кафедри _____
К.б.н., доц. П.Р. Хірівський
«___» _____ 2023

ЗАВДАННЯ
на кваліфікаційну роботу студенту
Ребець В.М.

**1.Тема роботи «Ферментативна активність заплавлених ґрунтів річки
Західний Буг, як індикатор накопичення важких металів»**

Затверджена наказом по університету № _____ від “___”
_____ 2022 р.

2. строк подання студентом кваліфікаційної роботи 21 березня 2023р.

3.Вихідні дані для дипломної
роботи _____

Літературні джерела

Методики виконання досліджень, матеріали і дані аналізів, обліків

4.Зміст кваліфікаційної роботи (перелік питань які необхідно розробити)

Вступ

Розділ 1 Літературний огляд

1.1. Водні ресурси 1.2. Органічна речовина ґрунту 1.2.1. Перетворення органічних речовин у ґрунтах та процес гумусоутворення. Роль ферментів у цих процесах 1.3. Ферментативна активність ґрунту, як біоіндикатор техногенного забруднення 1.3.1. Фактори, що впливають на активність ферментів 1.3.1.1. Концентрація ферменту 1.3.1.2. Концентрація субстрату 1.3.1.3. Температура 1.4.1.4. Реакція середовища

Розділ 2. Матеріали та методи

2.1 Схема досліджу 2.1.1. Відбір та підготовка зразків ґрунту до аналізу 2.2. Визначення біохімічних властивостей ґрунту 2.2.1. Визначення гумусу у ґрунті за І.В.Тюрніним 2.2.2. Методика визначення активності інвертаз 2.3. Методика визначення активності дегідрогеназ 2.2.4. Методика визначення гранулометричного складу ґрунту 2.2.5. Статистична обробка одержаних результатів

Розділ 3. Результати та їх обговорення

3.1. Визначення вмісту гумусу у досліджуваних ґрунтах

3.2. Активність деяких ґрунтових ферментів досліджуваних заплавної ґрунтів приток р. Зх Буг

3.2.1 Інвертазна активність

3.2.2. Дегідрогеназна активність

3.3. Обговорення результатів дослідження

Розділ 4. Охорона праці

4.1. Аналіз стану охорони праці

4.2. Правила техніки безпеки при роботі в хімічній лабораторії

Висновки

Бібліографічний список

5. Перелік графічного матеріалу: Рисунки (3)

6. Консультанти з розділів:

| Розділ | Прізвище, ініціали та посада консультанта | Підпис, дата | |
|--------|---|----------------|------------------|
| | | завдання видав | завдання прийняв |
| 1,2,3 | Шкумбатюк Р.С. | | |
| 4 | Ковальчук Ю | | |

7. Дата видачі завдання 10 вересня 2022 р.

Календарний план

| №п/п | Назва етапів дипломного проекту | Строк виконання етапів роботи | Примітка |
|------|---|-------------------------------|----------|
| 1 | Написання вступу та розділу "Огляд літератури" | 10.09.22-29.12.22 | |
| 2 | Написання розділу "Об'єкти, умови і методи досліджень" | 10.10.16-20.12.22 | |
| 3 | Написання розділу "Результати досліджень" | 20.12.22-20.02.23 | |
| 4 | Написання розділу "Обговорення результатів" | 25.02.23-18.03.23 | |
| 5 | Написання розділу "Охорона праці", формування висновків та списку наукової літератури | 20.03.23-10.04.23 | |

Студент _____

Зміст

| | Стор. |
|---|-------|
| Вступ | 8 |
| Розділ 1 Літературний огляд | 10 |
| 1.1. Водні ресурси | 10 |
| 1.2. Органічна речовина ґрунту | 23 |
| 1.2.1. Перетворення органічних речовин у ґрунтах та процес гумусоутворення. Роль ферментів у цих процесах | 25 |
| 1.3. Ферментативна активність ґрунту, як біоіндикатор техногенного забруднення | 28 |
| 1.3.1. Фактори, що впливають на активність ферментів | 29 |
| 1.3.1.1. Концентрація ферменту | 30 |
| 1.3.1.2. Концентрація субстрату | 32 |
| 1.3.1.3. Температура | 33 |
| 1.3.1.4. Реакція середовища | 34 |
| Розділ 2. Матеріали та методи | 37 |
| 2.1 Схема досліду | 37 |
| 2.1.1. Відбір та підготовка зразків ґрунту до аналізу | 37 |
| 2.2. Визначення біохімічних властивостей ґрунту | 38 |
| 2.2.1. Визначення гумусу у ґрунті за І.В.Тюріним | 38 |
| 2.2.2. Методика визначення активності інвертаз | 39 |
| 2.2.3. Методика визначення активності дегідрогеназ | 42 |
| 2.2.4. Методика визначення гранулометричного складу ґрунту | 44 |
| 2.2.5. Статистична обробка одержаних результатів | 44 |
| Розділ 3. Результати та їх обговорення | 47 |
| 3.1. Визначення вмісту гумусу у досліджуваних ґрунтах | 47 |
| 3.2. Активність деяких ґрунтових ферментів досліджуваних | 49 |

| | |
|--|----|
| заплавних ґрунтів приток р. Зх Буг | |
| 3.2.1 Інвертазна активність | 49 |
| 3.2.2. Дегідрогеназна активність | 50 |
| 3.3. Обговорення результатів дослідження | 53 |
| Розділ 4. Охорона праці | 56 |
| 4.1. Аналіз стану охорони праці | 56 |
| 4.2. Правила техніки безпеки при роботі в хімічній лабораторії | 57 |
| Висновки | 59 |
| Бібліографічний список | 60 |

УДК 631.46:631.417.2

Ферментативна активність заплавних ґрунтів річки Західний Буг, як індикатор накопичення важких металів. Ребець В.М.– Кваліфікаційна робота.– Дубляни, Львівський НУП, 2023.

65 стор. текст. част., 7 табл., 10 рис., 25 джерела.

Вивчено деякі біологічні властивості ґрунтів приток р. Західний Буг протягом другої половини 2022 – першої половини 2023 років: активність ґрунтових ферментів (інвертаз, дегідрогеназ) і вміст гумусу. Досліджено гранулометричний склад ґрунту, як одну із складових його фізико-механічних властивостей.

Згідно результатів визначення активності ґрунтових ферментів в забруднених заплавних ґрунтах приток р. Західний Буг встановлено, що активність інвертаз більшою мірою залежить від вмісту гумусу у ґрунті, ніж дегідрогеназна. Активність дегідрогеназ та інвертаз значною мірою залежить від гранулометричного складу ґрунту. Встановлено, що значення інвертазної активності заплавних ґрунтів поступово підвищуються відповідно до розміщення досліджуваних ділянок вниз за течією ріки Західний Буг; протилежна закономірність характерна для дегідрогеназ – спостерігають зменшення значень їх активності в цьому ж напрямку. Виявлено взаємозв'язок між активністю ґрунтових ферментів і концентрацією металів.

Розроблено питання охорони праці в хімічній лабораторії.

ВСТУП

Протягом останніх десятиліть у світі все гостріше відчуваються проблеми охорони здоров'я та захисту людей від можливих негативних наслідків їх господарської діяльності. Дуже гостро стоїть питання забезпечення населення якісною водою. Як свідчать дослідження більшості вчених за останні півстоліття, внаслідок зростання промислового виробництва, широкомасштабних гідротехнічних меліорацій, хімізації, надмірного розорювання земель, видобутку корисних копалин більшість екосистем річок України, у т.ч. і р. Західний Буг зазнали значного антропогенного навантаження.

Ріка Західний Буг належить до басейну Балтійського моря. Її поверхневі води використовуються як для задоволення потреб у загальних видах водокористування, так і для питного водопостачання населення м. Варшава через оз. Зегжинське, в яке впадає р. Західний Буг. Надходження з водами ріки забруднюючих речовин до цього озера ускладнює процес водопідготовки і вимагає збільшення енергозатрат на нього. У зв'язку з цим, встановлення причин, джерел та масштабів забруднення поверхневих вод у цій ріці і її притоках має важливе народно-господарське значення і є актуальною екологічною проблемою, вирішення якої пов'язано із забезпеченням населення якісною питною водою.

Особливої уваги заслуговують питання оцінки екологічного стану басейну Західного Бугу та оцінки якості поверхневих вод та заплавних ґрунтів

Ґрунт – це особливе природно-історичне тіло Природи, “шкіра планети”, “пам'ять життя”, або, висловлюючись мовою кібернетики, керуюча система біосфери. Невдале поводження з ґрунтом коштувало життя багатьом народам [1].

У одному грамі ґрунту живе і “працює” до півтора мільйона клітин мікроорганізмів, сотні тисяч дрібних безхребетних. Однак, майже на 90% він складається із мінеральної маси, води, гумусу і інших важливих утворень.

Ґрунт є менш динамічною системою, ніж атмосферне повітря і водойми. У зв'язки з тим, що ґрунти характеризуються високою адсорбційною поверхнею і здатністю до самоочищення, їх забруднення може не проявлятися досить тривалий час [2].

Однак, захисні сили ґрунту не безмежні, і з певного моменту токсичні сполуки здатні шкідливо впливати на живі організми у ньому.

У таких умовах необхідність служби ґрунтового моніторингу відчувається все гостріше і гостріше, адже величина антропогенного пресу на едафотопи постійно зростає, причому, збільшується і темп його росту. Загальний об'єм глобальних антропогенних навантажень на ґрунтовий покрив можна сміливо порівняти з дією природних факторів.

Ґрунтовий моніторинг – діагностика, прогноз і управління станом ґрунтів або контроль заради керування розширеним, відтворенням їх родючості.

Серед багатьох складових систем ґрунтового моніторингу важливе місце займає моніторинг біологічних властивостей ґрунтів, що включає виявлення регіонів з дефіцитним балансом головних елементів живлення рослин, виявлення і оцінка швидкості втрат гумусу, Нітрогену і Фосфору; контроль за вмістом елементів живлення рослин.

У системі моніторингу довкілля основним критерієм біотестування служить інтенсивність перебігу біохімічних процесів у забруднених токсичними речовинами ґрунтах. Однією із найбільш наочних характеристик їх зміни є активність ґрунтових ферментів, що приймають участь у всіх етапах метаболізму органічних субстратів і, зокрема, у процесах гумусоутворення [3].

Біологічні властивості ґрунтів Львівської області значно погіршилися в умовах інтенсивного зростання антропогенного навантаження на ґрунти, пов'язаного з сільськогосподарською діяльністю людини, а також викидами і скидами забруднюючих речовин промисловими об'єктами, які розташовані, як в межах даної області, так і поза нею

В таких умовах постало завдання пошуку нового біоіндикатора антропогенного навантаження на ґрунтовий покрив, в якості якого можуть використовуватись ґрунтові ферменти.

Актуальність теми зумовлена впливом вмісту важких металів на біологічну активність заплавних ґрунтів. А також здатністю донних відкладів акумулювати на своїй поверхні більшість важких металів.

Мета роботи полягала у дослідженні ферментативної активності ґрунтів в умовах забруднення сполуками важких металів заплавних територій приток р. Зх. Буг у Львівській області, а також встановлення взаємозв'язку між активністю ґрунтових ферментів та іншими показниками комплексного моніторингу ґрунтів, зокрема, вмістом гумусу та гранулометричним складом ґрунту.

Предметом дослідження є здатність заплавних ґрунтів накопичувати на своїй поверхні важкі метали.

РОЗДІЛ 1

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Водні ресурси Львівської області

У гідрологічному відношенні Львівщина досить різноманітна та контрастна, бо річки формуються і течуть у різних тектонічних, геологічних, гіпсометричних, кліматичних та інших умовах і відповідають їх властивостям та специфіці.

Усі поверхневі води (ріки, озера, стави) створюють водний рисунок (гідрографію) області, а їх «поведінка» (зміна рівнів, площ водної поверхні при розливах, швидкості течії, витрат і т.д.) — гідрологічний режим.

Рисунок річкової сітки оригінальний тим, що в межах області проходить ділянка Головного Європейського вододілу, який розділяє басейни північних та південних морів. Цікаво, що вододіл цей не дотримується виразних підвищень а проходить по різних за висотою територіях. Увійшовши з Польщі, у Карпатах він перетинає високі хребти, Передкарпаття, простягається вздовж південної окраїни Сянсько-Дністровської височини, проходить по горбогір'ю Розточчя спочатку на північ, а потім на південь, далі проходить по Подільському уступу, спускається з нього на Мале Полісся, виходить на Волинську височину, а після Волинської області переходить у Білорусь.

Другою особливістю гідрографії Львівської області є те, що усі річки, які тут протікають, беруть початок в межах області, формують річкові системи і виходять за межі області. За межами області беруть початок лише ріка Свіча (в Карпатах), р. Солокія і р. Рата (в польській частині Розточчя). Немає жодної прохідної (транзитної) річки. Ця обставина є зручною для управління водним господарством, зберігання річок в чистоті. Разом з тим це означає, що більшість річок є малими.

До басейнів північних морів (фактично одного моря — Балтійського) відносяться усі річки, що є притоками Західного Бугу (Золочівка, Полтва, Рата, Солокія та інші), або Сяну (Вишня, Шкло), що впадають у Віслу. На північ тече також ріка Стир, але вона відноситься до басейну південних морів, бо впадає у р. Прип'ять, остання в Дніпро, що несе свої води до Чорного моря. Усі ріки південної половини Львівської області відносяться до басейну ріки Дністер, а значить і до басейну Чорного моря.

У Львівській області нараховується понад 8950 річок загальною протяжністю 16343 км. Річки області відносяться до басейнів Чорного (Дністер, Стрий) і Балтійського (Західний Буг, Сан) морів.

Найбільшу довжину в межах Львівської області мають три ріки: Дністер (299 км), Стрий (230 км), Західний Буг (202 км). Ці ж ріки мають і найбільшу площу водозбору, відповідно і найбільші витрати води. За багатьма гідрологічними показниками ріка Стрий — права притока Дністра більша від самого Дністра до його злиття з Стриєм.

Найбільша кількість річок нараховується в басейні р. Дністер (5838), р. Західний Буг (3213) і незначна кількість в басейнах р.р. Сан, Прип'ять, Стир.

Звичайно, що найскладнішим і найконтрастнішим є басейн р. Дністер, який збирає воду з Карпат, передгірних височин і низовин, з Розточчя, Поділля і Опілля, що сформовані на різних тектонічних структурах, пройшли різні етапи розвитку в минулому і підпорядковані специфічним впливам сучасності.

Витоки річки є цікавим місцем для активного відпочинку, зокрема молоде покоління цікавиться сплавом по Дністру. Дністер витікає з хребта Розлуч недалеко від с. Вовче, тече спочатку на північний захід, а потім круто повертає на північний схід і, перетинаючи хребти Карпат (по тектонічних розломах), виходить біля м. Старий Самбір на передкарпатські рівнини, знову повертає до південного сходу і вже довго зберігає цей, паралельний до Карпат напрям. У гідрографічному рисунку басейну

Дністра є та особливість, що ріки, які витікають з Карпат, мають долини, що закладені перпендикулярно до Карпат. Ріки з Східно-Європейської платформи мають меридіональне простягання і течуть у паралельно закладених долинах, що також обумовлено тектонічною тріщинуватістю. Цікаво, що ліві і праві притоки Дністра впадають в головну ріку своєрідними скупченнями чи «вузлами». Особливо виразно це проявляється при злитті Бистриці (Підбужської), Тисьмениці і Верещиці (один вузол) та Щирки, Зубри і Колодниці (другий вузол). Менше згущені сходження Болозівки і Стрв'яжу з Дністром та таких потужних рік як Стрий, Свіча, Бережниця і Луг з Дністром при виході з території Львівської області. Подібні вузли є і далі вниз по течії Дністра за межами Львівської області (Лімниця, Луква, Гнила Липа). Цю специфіку гідрографії слід пам'ятати при аналізі причин паводкових розливів у долині Дністра.

Крім названих великих рік гідрографічну сітку території складає значна кількість другорядних і дрібних річок. Так, р. Дністер до Самбора має довжину 94 км, а сума довжин всіх потоків, що зв'язані з Дністром складає 1185 км. Для р. Стрий ці цифри становлять відповідно 232 і 4334 км. Добру уяву про розчленованість території річковими долинами дає показник густини річкової сітки. Найбільший він для басейну р. Стрв'яж — 1,6 км/км кв. і р. Стрий 1,4 км/км кв., а найменший у басейні р. Верещиця — 0,54 км/км кв.

Площі водозборів Дністра і його приток також дуже різні. Найбільший водозбір мають ріки Стрий (3060 км кв.), Свіча (1490 км кв.) та Верещиця (955 км кв.), а найменші у Тисмениці, Колодниці, Зубри та дрібніших.

Швидкість течії рік залежить від «падіння» русла, через що в горах вона висока (1-2 м/сек), а з виходом на рівнину швидко зменшується (до 0,5-0,3 м/сек). Особливо це стосується Стрв'яжу, Дністра (верхів'я), Бистриці, Стрия і Свічі. Останні дві ріки мають великий перепад висот і в передгірній частині, а тому і швидку течію, однак велика кількість води, що стікає по їх руслах з Карпат при різкому зменшенні швидкості на передгір'ї приводить

до формування численних рукавів. Створюються умови до мігрування русел по долині, блукання річки у власних відкладах. Ця своєрідність днищ долин Стрия і Свічі в Передкарпатті заважає сільсько-господарському їх використанню, але робить привабливими у рекреаційному, природоохоронному, науковому відношеннях. В залежності від вище названих характеристик та умов живлення формуються рівневий режим і витрати води в річках.

Річки рівнинних територій, які належать до басейну Західного Бугу, Стиру і Сяну мають менш контрастні характеристики, бо протікають по плоскій території, природно зарегульовані болотними масивами. Рисунок гідрологічної сітки тут також тектонічно обумовлений, на що вказує широтний напрям і паралельність долин Солокії, Судилівки, Болотні, Рати, Думниці, Яричівки, Маруньки, Радоставки. Інші річки зберігають паралельність з іншим простяганням (субкарпатським) — Західний Буг, Золочівка, Стир (у витоках), Березівка, Острівка, Білий Стік, Солонівка, а також Вишня, Раків, Завадівка, Шкло, Гноєнець, що на Яворівщині.

Ще одного напрямку (перпендикулярного до Розточчя і Карпат) притримуються річки Мощанка, Біла, Деревенка, Свиня та Стир (вниз по течії від с. Станіславчик).

Ріка Західний Буг витікає з Подільської височини, вриваючись глибоко в її північний уступ і цим самим розділяє (разом з Золочівкою) Гологори та Вороняки. Витоки Західного Бугу формуються у Колтівській улоговині. Особливо видатним є один з витоків Західного Бугу — джерело у с. Верхобуж. Воно шановане людьми, обмуроване, огорожене, прикрашене скульптурами і цікаве своєю потужністю: з джерела витікає зразу річка, яка колись забезпечувала роботу водяного млина, що був за 50 метрів від витоку!

Всі названі річки до повсюдної осушувальної меліорації були повноводними, меандрували в своїх долинах. Внаслідок проведення осушувальних робіт гідрологічна сітка дуже змінилась: виросла за рахунок

великої кількості проритих каналів, а крім того каналами з'єдналась у своєрідну величезну меліоративну сітку з можливим перетоком води через колишні вододіли. Канали хоч і обладнані шлюзами, майже постійно працюють на відведення води. У малодошові роки усі ріки, що випрямлені і перетворені у канали, дуже міліють.

Живлення рівнинних річок змішане, ґрунтово-снігово-дощове. Максимальне підняття рівнів води спостерігається у весняний період. У роки з великою кількістю опадів підняття рівнів бувають настільки високі, що вода виходить з берегів річок і каналів та заливає заплави. Мала швидкість течії у рівнинних ріках (0,2-0,6 м/сек) є причиною тривалих (2-3 тижні) повеней і паводків.

Витрати води в порівнянні з ріками Карпатського регіону невеликі — 1-4 м куб./сек.

Водні об'єкти озерного типу появились в місцях видобутку корисних копалин кар'єрним способом. Такими є затоплені кар'єри видобутку сірки біля смт. Роздол і м. Яворова, піщаний кар'єр біля с. Ясницька, що поблизу Львова. Озер природного походження у Львівській області практично немає (крім оз. Сива Вода біля с. Шкло) та озер-стариць на заплавах рік.

Підземні води. У Львівській області відомі такі типи підземних вод: прісні, мінералізовані, термальні і мінеральні. У їх поширенні спостерігається певна закономірність, яка зумовлена, в першу чергу, геологічною будовою. Не менш важливу роль відіграє геохімічна обстановка, в якій формується той чи інший тип вод. Прісні води приурочені до четвертинних відкладів та корінних порід і є основним джерелом водопостачання як сільських, так і міських населених пунктів.

Водоносні горизонти четвертинного віку приурочені до алювіальних відкладів річкових терас, флювіогляціальних пісків та алювіально-делювіальних відкладів. Найбільш водозбагаченими є водоносні горизонти, пов'язані з акумулятивними терасами Дністра та його допливів.

Водоносні горизонти, що належать до елювіально-делювіальних відкладів на схилах карпатських гір, річкових долин Передкарпаття, ярів Подільської височини, не є сталими як за площею поширення, так і за потужністю та режимом, тому у водопостачанні населених пунктів Львівської області вони відіграють другорядну роль.

У межах північно-східної частини Львівської області, яка належить до Волино-Подільського артезіанського басейну, прісні води поширені у відкладах третинного і крейдового віку. У третинній товщі водоносними виявилися літотамнієві вапняки і пісковики нижньотортонського горизонту. Пов'язані з ними води — слабонапірні, прісні, гідрокарбонатно-натрієвого складу із задовільними фізичними властивостями.

1.2. Органічна речовина ґрунту

Невід'ємною складовою частиною будь-якого ґрунту є органічна речовина, тобто сукупність живої біомаси і органічних решток рослин, тварин, мікроорганізмів, продуктів їх метаболізму і специфічних новоутворених темнозбарвлених гумусових речовин, що рівномірно просочують ґрунтовий профіль [9]. Складний комплекс органічних сполук ґрунту зумовлений різним складом органічних решток, неоднаковою спрямованістю мікробіологічного процесу, різноманітними гідротермічними умовами, тощо. У складі органічної речовини ґрунту знаходяться всі хімічні компоненти рослин, бактеріальної та грибнової плазми, а також продуктів їх подальшої взаємодії і трансформації. Це тисячі сполук, середній час існування яких у ґрунті може варіювати від доби до тисячі років. Гумус – це гетерогенна динамічна полідисперсна система високомолекулярних азотистих ароматичних сполук кислотної природи.

Джерелом гумусу є органічні рештки вищих рослин, мікроорганізмів і тварин, що живуть у ґрунті. Залишки зелених рослин попадають у ґрунт у вигляді надземного опаду та відмерлої кореневої системи рослин. Кількість

органічної речовини, що надходить до ґрунту – різна і залежить від ґрунтово-рослинної зони, складу, віку та густоти насаджень, а також від ступеня розвитку трав'янистого вкриття. Найбільш суттєвим джерелом ґрунтової органіки є рослинність, яка мобілізує та акумулює запас потенціальної енергії та біофільних елементів у надземних і підземних органах рослин, у їх рештках.

Продуктивність рослинності у різних екосистемах неоднакова: від 1-2 т/га в рік сухої речовини в тундрах до 30-35 т/га у вологих тропічних лісах. Під трав'янистою рослинністю основним джерелом гумусу є корені, маса яких у метровому шарі ґрунту складає 8-28 т/га (степ). Трав'яниста рослинність у зоні хвойних та мішаних лісів (Полісся) на суходільних луках накопичує 6-13 т. коренів на гектар у метровому шарі ґрунту, під багаторічними сіяними травами – 6-15 т/га; однорічною культурною рослинністю – 3,1-15 т/га органічних решток. Під лісовою рослинністю рослинний опад утворює підстилку, участь коренів у гумусоутворенні – незначна. По профілю, вміст кореневих решток із глибиною зменшується. Ці залишки нерідко використовуються ґрунтовою фауною та мікроорганізмами, внаслідок чого відбувається трансформація органічної речовини у вторинні форми [10]. Хімічний склад органічних решток дуже різноманітний: вода (70-90 %), білки, ліпіди, лігнін, воски, дубильні речовини. Переважна більшість цих сполук – високомолекулярні (мол. маса 10^4 - 10^6). Деревина розкладається повільно, тому що містить багато смол і дубильних речовин, які трансформуються лише специфічною мікрофлорою. Натомість, дуже швидко розкладаються бобові трави, збагачені білками та вуглеводами. Зольних елементів у травах є багато, а у деревних мало. В орних ґрунтах джерелами для гумусоутворення служать залишки культурних рослин і органічних добрив [11].

1.3.1. Перетворення органічних речовин у ґрунтах та процес гумусоутворення. Роль ферментів у цих процесах

Потрапляючи до ґрунту органічні рештки піддаються різним механічним, біохімічним і фізико-хімічним перетворенням, внаслідок чого утворюється гумус.

Значна роль у гумусоутворенні належить ґрунтовій фауні, яку за розмірами поділяють на чотири групи: мікро - , мезо-, макро-, мегафауну. Причому, переважно саме мікро- та мезофауна беруть активну участь у переробці органічної речовини ґрунту, сприяючи цим гумусоутворенню. Загальна біомаса мікроорганізмів у метровому шарі ґрунту складає до 10 т/га (приблизно 0,5-2,5% від маси гумусу), їх залишки становлять більше третини залишків рослин. Біомаса водоростей – 0,5-1 т/га, а біомаса безхребетних – 12,5-15 т/га (більша частина цієї біомаси формується червами). Від хімічного складу джерел залежить характер гумусоутворення та якість гумусу.

На першому етапі розкладу органічних залишків останні втрачають свою анатомічну будову, складні органічні сполуки трансформуються у прості і більш рухомі, тобто у проміжні продукти розкладу. Ці процеси мають біохімічний характер, оскільки відбуваються при участі ферментів.

Перша фаза розкладу органічних залишків – їх фізичне руйнування, подрібнення. Друга фаза – гідроліз органічних речовин: білків; вуглеводів, ліпідів, смол, дубильних речовин. Третя фаза розкладу – окисно-відновні процеси, що за допомогою ферменту оксиредуктази викликають повну мінералізацію органічних речовин – відбувається дезамінування амінокислот, декарбоксілювання органічних кислот, розщеплення полі- та моносахаридів, тощо.

Реакції є дуже різноманітні, їх характер визначається умовами, складом органічного матеріалу. В аеробних умовах відбувається окислення, в анаеробних – відновлення. У кінцевому вигляді амінокислоти мінералізуються до CO_2 , H_2O , оксидів, Нітрогену в аеробних умовах, у вуглеводи – у анаеробних. Вуглеводи приєднуючи кисень перетворюються в органічні кислоти, альдегіди, спирти, в подальшому – у CO_2 та H_2O , а при

нестачі кисню відбувається їх бродіння і утворюються метан, спирти, низькомолекулярні органічні кислоти. Аналогічні перетворення до мінеральних речовин відбуваються з іншими проміжковими продуктами розкладу. Дуже швидко мінералізується цукор, целюлоза, погано – лігнін, смоли, воски.

Швидкість розкладу органічних залишків зменшується в анаеробних умовах аж до його повного припинення та утворення торфу. Більшість з органічних залишків окислюється до вуглекислого газу та води. А менша частина проходить другий етап перетворень – гуміфікацію, тобто синтез гумусних речовин. Рівень гуміфікації органічних решток залежить від гідротермічного режиму, ботанічного та біохімічного складу решток, їх кількості.

Природа утворення гумусних речовин цікавила дослідників протягом усього періоду розвитку ґрунтознавства. За цей час було висунуто кілька гіпотез походження ґрунту. Значний внесок у вивчення процесів гуміфікації зробили Р.В. Вільямс, Л.М. Александрова, І.В. Тюрін, М.М. Кононова, Д.С. Орлов, М.І. Лактінов та ін.

Однією з найбільш поширених концепцій гумусоутворення є конденсаційна (полімеризаційна) концепція, яка була розроблена М.М. Каноною і В.Ф.Фляйгом. засновники даної теорії стверджували, що гумусові речовини – це продукт конденсації структурних фрагментів, які утворились в результаті первинного розкладу органічних сполук циклічного характеру (лігніни, дубильні речовини, смоли та ін.). Одночасно відбувається полімеризація шляхом окислення циклічних сполук ферментами типу фенолоксидаз через семіхінони до хінонів і взаємодією останніх з амінокислотами та пептидами.

Встановлено, що швидкість і спрямованість гуміфікації залежить від багатьох факторів. Основними серед них є кількість і хімічний склад рослинних решток, водний і повітряний режим, склад ґрунтових мікроорганізмів, реакція ґрунтового розчину, гранулометричний склад

грунту тощо. Повне співвідношення даних факторів і їх взаємодія зумовлюють певний тип гуміфікацій органічних решток: фульватний, гуматно-фульватний, фульфатно-гуматний і гуматний.

В умовах антропогенного навантаження відмічено значне зниження вмісту гумусу в ґрунтах. Зміна вмісту гумусу визначається структурою повних площ, співвідношенням у просапних і суцільного посіву культур, питомою вагою багаторічних трав, застосування органічних і мінеральних добрив.

Процес дегуміфікації має місце у всьому світі. У нашій країні найбільшої дегуміфікації зазнали чорноземи лісостепової зони внаслідок посиленої мінералізації детринної частини гумусу та розвитку ерозійних процесів. Втрати гумусу у горизонтальній зоні за останнє століття коливалося в межах 1-4 %, що складає від 0,5 до 1,8 т/га. Запаси специфічної органічної речовини ґрунту скоротилися на 15-40 %, про що свідчать результати повторного порівняння вмісту і запасів гумусу у горизонтах, де понад сто років тому працював В.В. Докучаєв (Г.Я. Чесняк та ін., 1983).

Значні втрати гумусу часто спричинені безвідповідальністю людей. До прикладу, пожежі на поверхні ґрунту призводять до знищення рослинної органіки, яка б могла стати джерелом гумусу. Зрештою, вогонь пересушує верхні декілька сантиметрів ґрунту, в яких гумус просто горить. Меліорація торф'яних ґрунтів також супроводжується втратою органічної речовини.

Людина може сприяти наростанню гумусу у ґрунті застосуванням органічних добрив, вапнуванням кислих ґрунтів, використанням у сівозміні багаторічних трав, регулюванням співвідношенням площ просапних і зернових культур та іншими прийомами [12].

1.4. Ферментативна активність ґрунту, як біоіндикатор техногенного забруднення

Ферментативна активність ґрунтів являється показником біологічної активності і може використовуватись при діагностиці забруднення ґрунтів [13].

Найбільш інформативним показником забруднення ґрунтів важкими металами вважається активність ферментів. Іони металів інгібують ферментативні реакції, утворюючи комплекси із субстратом, сполученням із активною групою ферментів або шляхом реакції з комплексом фермент-субстрат. Одержана тісна негативна кореляція між активністю дегідрогеназ і високими концентраціями Ніколу, Плюмбуму, Кадмію і Ванадію. При дозах Плюмбуму вище 1000 мг/кг пригнічується каталіз і ряд інших окисно-відновних і гідролітичних процесів, різко падає активність дегідрогеназ. Активність уреаз і кислої фосфатази помітно пригнічується високими концентраціями Купруму і Цинку.

Дегідрогенази, інвертази і уреазини є найбільш чутливими серед ґрунтових ферментів до дії газопилових викидів комплексного складу. Найбільш ефективними із 20 мікроелементів інгібіторами активності кислої фосфатази є Гідраргіум, Арсен, Вольфрам, Молібден, а лужної – Аргентум, Кадмій, Ванадій і Арсен. Купрум, Цинк, Плюмбум і Кадмій викликають пригнічення активності амілаз, Гідраргіум – целюлози, ксилоназ (1000 мг/кг) і інвертаз (100 мг/кг).

Промислове забруднення певного складу і активності може викликати активізацію ґрунтових ферментів. Так, забруднення важкими металами у поєднанні з іншими сполуками, які утворюють у ґрунті оптимальні для дії ряду ферментів реакції середовища (нейтральну), може підвищувати активність каталаз, дегідрогеназ, сульфідоксидаз [14].

При забрудненні ґрунтів органічними сполуками, зокрема, фенолами, активність поліфенолоксидаз зростає, а активність дегідрогеназ, інвертаз, ліпаз зменшується. У технічних ґрунтах зафіксовано підвищення, у порівнянні з фоновою ділянкою, вмісту фенолів (як результат прямого забруднення ними), які обумовили збільшення більш ніж на порядок

численності групи мікроорганізмів, які використовують фенол у якості єдиного джерела Карбону. Розвиток цієї групи мікроорганізмів, швидше всього, і призводить до підвищення поліфенолоксидазної активності у забрудненому ґрунті. Аналіз ферментативної активності дерново-підзолистих ґрунтів показав, що по мірі віддалення від джерела забруднення дегідрогеназна, інвертазна і уреазна активність ґрунтів зростає. Зворотна закономірність властива для ліпідної активності ґрунтів – її максимум спостерігається у найбільш забруднених ґрунтах.

З приведеної інформації можна зробити висновок, що забруднення ґрунтів веде до погіршення їх властивостей і викликає зниження біологічної активності [15].

1.4.1. Фактори, що впливають на активність ферментів

Так як ферменти приймають участь у процесі гумусоутворення, показник вмісту гумусу у ґрунті є одним із найважливіших факторів, що враховується при визначенні та аналізі активності ґрунтових ензимів. Так, наприклад, в роботі [16] поряд із впливом промислових викидів комплексного складу Бурштинської ТЕС на активність деяких гідролітичних (інвертаза, уреаз) та окисно-відновних (каталаза) ферментів у темно-сірому опідзоленому ґрунті визначали вміст гумусу у них.

У результаті дослідження було встановлено, що кількість гумусу у верхньому горизонті коливалося в межах від 3,35 до 8,17 %. Визначення активності гідролітичних ферментів у контрольних і досліджуваних зразках ґрунту, взятих з території забрудненої промисловими викидами зони, дозволило виявити наявність чіткої залежності досліджуваних показників від ступеня забруднення ґрунтів. Виявлено, що токсиканти негативно впливають на інвертазну активність. Це підтверджується тим, що із віддаленням від джерела забруднення активність ферменту зростає. Також встановлено, що

між величиною ферментативної активності і вмістом гумусу у пробах ґрунту чіткої залежності не спостерігається [16].

Щоб зрозуміти і правильно оцінити результати визначення ферментативної активності, необхідно чітко уявити, від яких факторів залежить швидкість ферментативної реакції, які умови впливають на неї. Таких умов є багато. Перш за все, це співвідношення концентрацій самих реагуючих речовин: ферменту і субстрату. Наступне, це різноманітні особливості того середовища, в якому протікає реакція: температура, кислотність, наявність солей, кількість гумінових і фульвокислот (склад гумусної речовини ґрунту), інших домішок, зданих як прискорювати, так і сповільнювати ферментативний процес і т.д. [17]. Розглянемо найважливіші з них.

1.4.2. Концентрація ферменту

З курсу хімії відомо, що швидкість любой хімічної реакції пропорційна концентрації реагуючих речовин. Це у повній мірі стосується і ферментативних реакцій, і означає, що швидкість такої реакції повинна залежати від того, скільки ферменту знаходиться у розчині.

Чим його більше, тим швидше буде протікати процес. Для переважної більшості ферментів залежність між концентрацією ферменту і швидкістю реакції носить пряmolінійний характер, як це показано на рис 1..

Це означає, що збільшення концентрації ферменту в 2, 3, 4 і більше разів призводить до збільшення швидкості реакції у таке ж число разів. А це дуже важливо, так як тільки така пряма залежність дозволяє по швидкості реакції судити про кількість ферменту. Саме на цій властивості ґрунтуються всі методи визначення ферментативної активності: адже, фіксувати можна тільки швидкість проходження реакції, тобто зменшення субстрату або приріст продукту за одиницю часу.

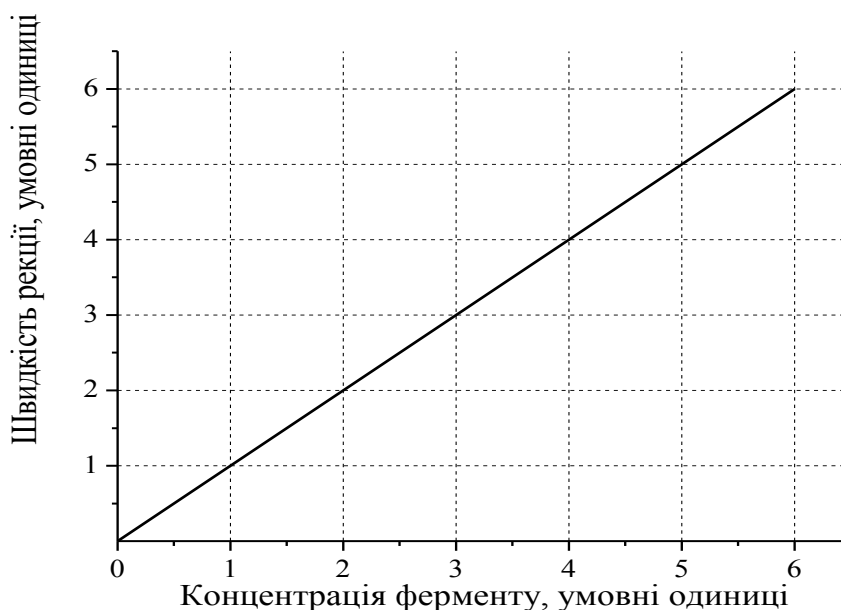


Рис. 1.. Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації ферменту

І тільки пряmolінійна залежність, зображена на рис. 2, дає можливість по швидкості реакції безпосередньо оцінити кількість ферменту у даній пробі.

1.4.3. Концентрація субстрату

Субстрат поряд з ферментом є першим учасником ферментативного процесу, тому швидкість реакції залежить від концентрації субстрату (зростає з збільшення концентрації останнього). Проте, залежність в даному випадку є набагато складнішою.

Крива на рис. 1.2 показує, що із збільшенням концентрації субстрату швидкість реакції зростає нерівномірно. На початку, за низької концентрації субстрату, навіть незначне її зростання дає досить відчутний приріст швидкості. А в області більш високої концентрації субстрату її додаткове підвищення майже не відображається на швидкості реакції. У цьому можна впевнитись, якщо розглянути дві ділянки кривої.

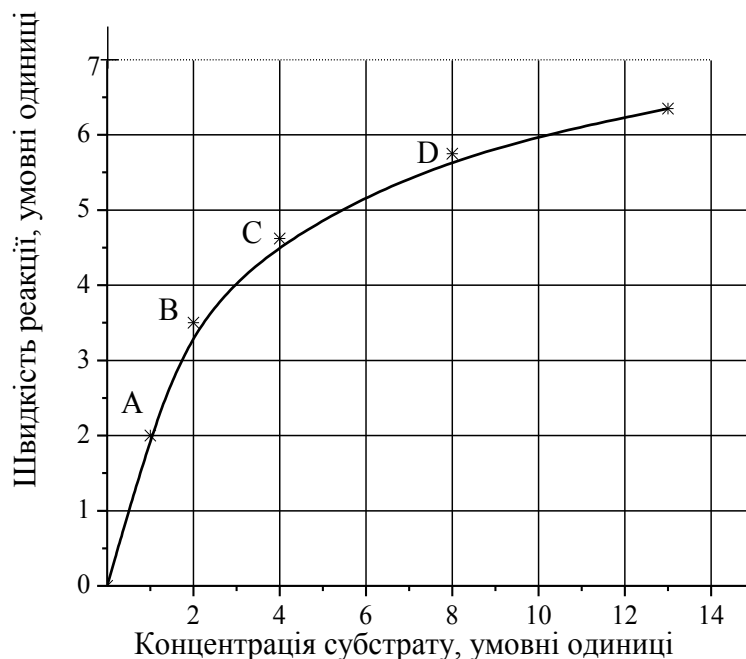


Рис. 1.2. Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату

На ділянці АВ збільшення концентрації субстрату в двоє (з 1 до 2 одиниці) призводить до значного підвищення швидкості (майже в два рази). Таке ж підвищення концентрації субстрату – удвічі (з 4 до 8 одиниць) – у дальній області кривої (ділянка CD) незначно відображається на швидкості реакції (з 5 до 6 одиниць). Можна вважати, що при досить високій концентрації субстрату швидкість реакції стає постійною і наближається до величини, позначеної пунктирною лінією, яка називається максимальною швидкістю реакції.

Потрібно зазначити, що дана крива хоч і є типовою, проте вона не універсальна. Існують ферменти з іншим характером залежності: збільшення концентрації субстрату вище певної межі не тільки не збільшує швидкість реакції, яка каталізується даними ферментами, а навпаки, пригнічує її. Це так зване субстратне сповільнення [18].

1.4.4. Температура

На більшість хімічних перетворень впливає зміна температури: при збільшенні температури швидкість реакції зростає і спадає при пониженні (рис. 1.3).

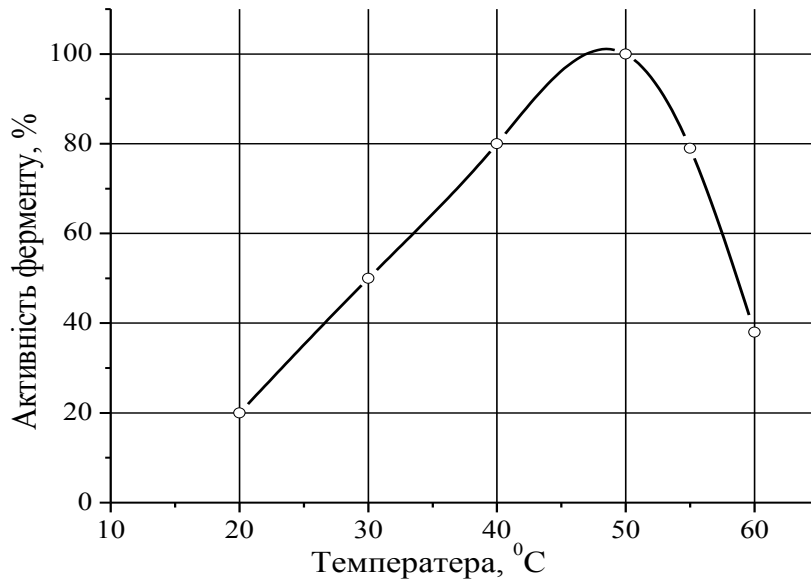


Рис. 1.3. Вплив температури на активність деяких ферментів

Реакції, які каталізуються ферментами не є у даному випадку винятками. При нагріванні посуду, в якому міститься фермент і його субстрат, швидкість реакції зростає. Однак, існує певна межа для зростання швидкості. Це тому, що ферменти погано переносять нагрівання, при відносно високій температурі вони руйнуються, втрачаючи властиву їм вихідну “нативну” структуру. Це явище, яке називається денатурацією, супроводжується втратою активності ферментів.

Тому з підвищенням температури все більша кількість ферментів втрачає свою активність. В результаті, викликане підвищенням температури, прискорення реакції зводиться до нуля. В цьому чітко відображається подвійний вплив температури.

На рисунку 1.4 видно, що спочатку, при порівняно низькій температурі, нагрівання помітно прискорює процес, але в подальшому дається ознаки денатураційна дія температури і швидкість реакції падає. На температурній кривій ферментативної реакції можна знайти таку температурну точку, при

якій реакція буде протікати найшвидше. Дана величина буде називатись температурним оптимумом. Для ферменту зображеного на рис. 4, температурний оптимум лежить при 50°C. Але дане значення властиве не всім ферментам, і навіть для одного і того ж ферменту воно може коливатись в досить широких межах.

Стійкість ферменту до дії температури залежить від природи самого ферменту. Слід зазначити, що вплив охолодження на ферменти також ховає в собі багато цікавого. При пониженні температури швидкість реакції сповільнюється і при досить глибокому охолодженні (-20÷-40°C), протікання процесу практично зупиняється. Але найцікавіше полягає в тому, що охолодження, на відміну від нагрівання, зовсім не пошкоджує ферменти, а навпаки чудово зберігає [19].

1.4.5. Реакція середовища

Давно було помічено, що ферменти є надзвичайно чутливими до кислотності середовища. Чутливість ферментів до зміни кислотності середовища відображається в тому, що кожен з них має своє, характерне для нього значення рН – оптимум, тобто, те значення рН, при якому він виявляє максимальну активність. Як правило, фермент активний лише у вузькому інтервалі рН, тобто залежність від кислотності середовища носить строгий характер. Навіть незначне відхилення від оптимуму призводить до швидкого падіння активності. Даний фактор приведений на рис. 1.4, де представлена залежність активності трьох різних ферментів від рН. Видно, що пепсин (I) активний лише у сильно кислому середовищі (рН~2), амілаза (II) проявляє активність при рН~7, тобто у нейтральному середовищі, а лужна фосфотаза (III) – у лужному середовищі при рН~10.

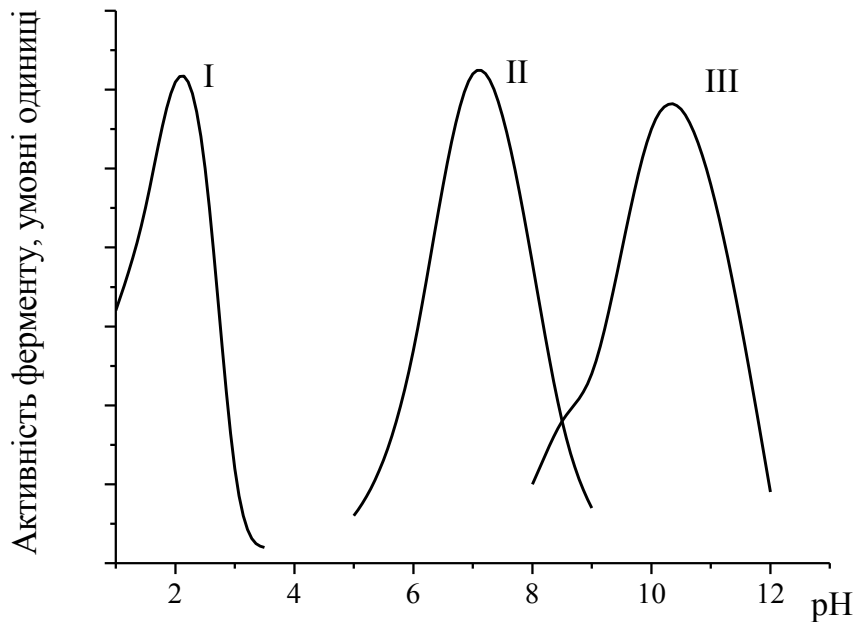


Рис. 1.4. Вплив рН середовища на активність деяких ферментів:
I – пепсин, II – амілаза, III – фосфатаза.

Такі відмінності являють собою швидше всього винятки. Більшість ферментів володіє максимальною активністю при значеннях рН~7. Це стосується і ґрунтових ферментів, для яких оптимальною є нейтральна реакція середовища. У такому середовищі підвищується активність каталаз, дегідрогеназ, інвертаз, сульфідоксидаз. Значення рН-оптимума залежить не тільки від природи ферменту. У відомих межах воно може бути обумовлено концентрацією субстрату, кількістю і якістю наявних домішків, температурою і іншими факторами.

Отже, вище було перераховано найважливіші фактори, які визначають швидкість ферментативної реакції (концентрація ферменту і субстрату, температура і кислотність середовища). Зрозуміло, це не вичерпує всіх умов від яких залежить ферментативна активність. Дуже складний і різноманітний вплив має склад реакційного середовища, якісна і кількісна структура гумусу. Велике значення має концентрація і природа солей і деяких інших складових частин середовища [20].

1.5. Загальна характеристика важких металів

Важкі метали відносяться до пріоритетних забруднюючих речовин, спостереження за якими обов'язкове у всіх середовищах.

Термін важкі метали, що характеризує широку групу забруднюючих речовин, набув останнім часом значного поширення. У різних наукових і прикладних роботах автори по-різному трактують значення цього поняття. У зв'язку з цим кількість елементів, що відносяться до групи важких металів, змінюється в широких межах. В якості критеріїв приналежності використовуються численні характеристики: атомна маса, густина, токсичність, поширеність у природному середовищі, ступінь залученості в природні та техногенні цикли. У деяких випадках під визначення важких металів потрапляють елементи, які відносяться до крихких (наприклад, вісмут) чи металоїдів (наприклад, миш'як).

У роботах, присвячених проблемам забруднення навколишнього природного середовища та екологічного моніторингу, на сьогоднішній день до важких металів відносять більше 40 металів періодичної системи з атомною масою понад 50 атомних одиниць: V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Sn, Hg, Pb, Bi та ін. При цьому важливу роль у категоріюванні важких металів відіграють такі умови: їх висока токсичність для живих організмів у відносно низьких концентраціях, а також здатність до біоаккумуляції і біомагніфікації. Практично всі метали, які потрапляють під це визначення (за винятком свинцю, ртуті, кадмію та вісмуту, біологічна роль яких на даний момент невідома), активно беруть участь у біологічних процесах, входять до складу багатьох ферментів. За класифікацією Н. Реймерса, важкими слід вважати метали з густиною більше 8 г/см³. Таким чином, до важких металів відносяться Pb, Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Sb, Sn, Bi, Hg.

Формально визначенню важкі метали відповідає велика кількість елементів. Однак, на думку дослідників, зайнятих практичною діяльністю, пов'язаною з організацією спостережень за станом і забрудненням

навколишнього середовища, сполуки цих елементів далеко не рівнозначні як забруднюючі речовини. Тому в багатьох роботах відбувається звуження рамок групи важких металів, відповідно до критеріїв пріоритетності, зумовленими напрямом і специфікою робіт. Так в роботах Ю.А. Ізраеля в переліку хімічних речовин, що підлягають визначенню в природних середовищах на фонових станціях у біосферних заповідниках, в розділі важкі метали названі Pb, Hg, Cd, As. З іншого боку, відповідно до рішення Цільової групи з викидів важких металів, що працює під егідою Європейської Економічної Комісії ООН та займається збором і аналізом інформації про викиди забруднюючих речовин в європейських країнах, тільки Zn, As, Se та Sb були віднесені до важких металів. За визначенням М. Реймерса окремо від важких металів стоять благородні і рідкісні метали, відповідно залишаються тільки Pb, Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Sb, Sn, Bi, Hg. У прикладних роботах до числа важких металів найчастіше додають Pt, Ag, W, Fe, Au, Mn.

Іони металів є неодмінними компонентами природних водойм. Залежно від умов середовища (рН, окисно-відновного потенціалу, наявності лігандів) вони існують в різних ступенях окислення і входять до складу різноманітних неорганічних і металоорганічних сполук, які можуть бути істинно розчиненими, колоїдно-дисперсними чи входити до складу мінеральних та органічних суспензій.

Істинно розчинені форми металів, у свою чергу, досить різноманітні, що пов'язано з процесами гідролізу, гідролітичної полімеризації (утворенням поліядерних гідроксокомплексів) і комплексоутворення з різними лігандами. Відповідно, як каталітичні властивості металів, так і доступність для водних мікроорганізмів залежать від форм існування їх у водній екосистемі.

Багато металів утворюють досить міцні комплекси з органікою; ці комплекси є однією з найважливіших форм міграції елементів у природних водах. Більшість органічних комплексів утворюються за хелатними циклами і є стійкими. Комплекси, утворені ґрунтовими кислотами із солями заліза, алюмінію, титану, урану, ванадію, міді, молібдену та інших важких металів,

відносно добре розчинні в умовах нейтрального, слабкокислого і слабколужного середовищ. Тому металорганічні комплекси здатні мігрувати в природних водах на досить значні відстані. Особливо важливо це для маломінералізованих і в першу чергу поверхневих вод, в яких утворення інших комплексів неможливе.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Схема досліду

Експериментальні дослідження здійснювали у лабораторіях кафедри екології та біології ЛНУП.

2.1.1. Відбір та підготовка зразків ґрунту до аналізу

Донні відклади тісно взаємозалежні з іншими областями навколишнього середовища. Тому їхній моніторинг повинен бути невід'ємною частиною комплексної програми моніторингу довкілля.

Для детального лабораторного вивчення ґрунтів з природного середовища відбирають наважку вагою 500-1000 г. Для одного зразка ґрунту проводять відбір проб з 4-6 точок, відстань між якими складає 3-5 метрів, у випадку донних відкладів відбір здійснюють на різних глибинах.

Проби донних відкладів відбирали за допомогою колонкового керновідбірника (роис. 2,1).

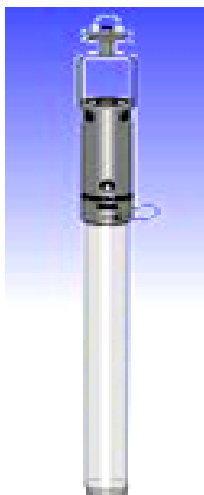


Рис. 2.1. Гравітаційний пробовідбірник (ґрунтова трубка)

При аналізі на важкі метали, для того щоб уникнути забруднення проб ґрунтів за рахунок контакту з стінками керновідбірника, в циліндр для захоплення ґрунту поміщають пластикові вкладиші (прокладки). Якщо ж проби беруться для аналізу на вміст органічних сполук чи ферментів, ґрунт потрібно брати із центра керна, приблизно в сантиметрі від стінок пластикового вкладиша.. При відборі проб для геохімічного аналізу

оптимально підходять пластикові вкладиші із внутрішнім діаметром більше 50 мм.

Після вибірки проби ґрунту поміщають у попередньо очищені алюмінієві лотки або на алюмінієву фольгу для ферментативного аналізу або в пластикові пакети для аналізу на важкі метали й заморожують (чи зберігають у холодильнику при температурі 4°C під час транспортування в лабораторію, щоб запобігти бактеріальному розкладанню, якщо аналіз повинен визначити нафтові вуглеводні).

У лабораторії проби ґрунту повинні бути заморожені при температурі -20°C, після чого піддані сублімаційній сушці в сублімаційній установці. Частина проби зберігають для повторного аналізу, якщо виникне підозра, що проба була забруднена під час аналізу. Тому до сублімації половина проби відокремлюється й зберігається в морозильній камері для наступного користування (у цьому випадку потрібна морозильна камера з температурою -80°C).

Після сублімації проби ґрунту просіюють, для того щоб видалити невеликі камінчики, шматочки гілок і черепашок. До просівання із проби потрібно видалити шматочки черепашок, гілок і листів пінцетом з нержавіючої сталі (для органічного аналізу) або пластику (для аналізу на важкі метали), щоб запобігти додатковому забрудненню.

Отримані таким чином проби (не менше 250 грамів) просіюють через сито з діаметром 1 мм для видалення мішаючи великих включень (каміння, залишків рослин і т.д.). Просіяну пробу подрібнюють в агатовій ступці до одержання однорідної маси, після чого поміщають в фарфорові тиглі і просушують в сушильній шафі при температурі 45 °C на протязі 4-6 годин.

Для біохімічного аналізу методом квартування відбирають так звану середню пробу ґрунту [14].

Просівання має особливе значення й може здійснюватися різними способами. Діаметр отворів може бути 1 або навіть 2 мм (попереднє просівання), щоб видалити шматочки черепашок, гілок і листів, а може бути

250 мкм. У більшості випадків донні відкладення просівають через сито з діаметром отворів 63 мкм, щоб відокремити мул і глину від піску й більш грубозернистого матеріалу; це практично й відповідає загальноприйнятій процедурі (але не рекомендується просівати дрібнозернисті й однорідні донні відкладення із зон з високим коефіцієнтом осадження, оскільки в їх багато дрібних часток, у яких осідають забруднювачі. Якщо дрібнозернистих відкладень ні, рекомендується просіяти пробу, щоб відокремити самі дрібні частки).

В ідеалі розмір отворів становить 63 мкм, і проба ділиться на частині із зернистістю вище й нижче 63 мкм. У деяких випадках проводиться просівання з діаметром отворів 20 мкм, так що вдається одержати 3 частини проби для аналізу: з розміром часток більше 63 мкм, від 20 до 63 мкм і менш 20 мкм.

Оскільки просівання також може привести до забруднення проб (в основному органічними забруднювачами), доводиться опускати, по можливості, багато етапів просівання; іноді рекомендується проводити тільки одне просівання через сито з отворами від 250 мкм до аналізу на органічні забруднювачі.

Для моніторингу просторових тенденцій просівання не має вирішального значення, але рекомендується просівати пробу через сито з отворами менш 1 або 2 мм у діаметрі відразу після відбору або сублімації.

Для моніторингу тимчасових тенденцій рекомендується просівати пробу через сито з отворами більше 63 мкм. Але головне - забезпечити програмну сумісність, тому, якщо лабораторія використовує сито з отворами менш 1 або 2 мм у діаметрі для тимчасових досліджень, відповідаючи при цьому всім критеріям визначення тенденцій, до інших фракцій переходити не рекомендується.

Для визначення основних і слідових концентрацій металів у донних відкладах методом «рідких реактивів» необхідно хімічно розкласти всю

пробу або її частину. Розклад проб здійснювали двома методами: (а) повне розкладання; (б) розкладання сильною кислотою;

А)Проби ґрунту обробляються в закритих тефлонових колбах фтористоводневої кислотою (ФК) в суміші із царською горілкою з метою хімічного розкладання проб. Застосування ФК має істотне значення, оскільки це єдина кислота, що повністю розчиняє гратчастий силікат і вивільняє зв'язані метали.

Розклад проб здійснювали за наступною послідовністю:

- 1) Струшують мензурки із пробами протягом 2 хв для гомогенізації.
- 2) Відкрити мензурки через кілька хвилин після струшування.
- 3) Зважити точно 0.1 - 0.3 г сухої проби в тефлонових колбах (а) або 0.1 - 0.5 г у тефлонових пробірках (б).
 - 4а) Повільно додати 5 мл азотної кислоти (HNO_3) і 2 мл концентрованої фтористоводневої кислоти. Зберігати проби при кімнатній температурі протягом години.
 - 4б) Повільно додати 1 мл царської горілки (HNO_3 : HCl , 1:3 об'ємів) і 6 мл концентрованої ФК. Зберігати проби при кімнатній температурі протягом 1 год.
 - 5а) Щільно закрити тефлонові балони (гайковим глечком) і помістити їх в автоклав по відповідній процедурі розкладання (див. приклад параметрів у таблиці 8).
 - 5б) Або закрити пробірки й помістити їх в алюмінієвий контейнер і поставити на плиту при температурі 120°C на два з половиною години.
- 6а) Зважити 0.8 г борної кислоти й помістити в 50-мл поліпропіленові градуйовані пробірки, потім додати 20 мл бідистиляту і струсити.
- 6б) Зважити 3.70 г борної кислоти й помістити в 50-мл поліпропіленові градуйовані пробірки, потім додати 20 мл бідистильованої води та струсити.

7a) Дати пробам охолонути до кімнатної температури, обережно скинути тиск, потім відкрити балони.

7b) Дати пробам охолонути до кімнатної температури, потім відкрити пробірки.

8) Перемістити проби в поліпропіленові градуйовані пробірки з борною кислотою. Сполоснути балони або тefлонові пробірки бідистиляти, як мінімум, тричі, додаючи воду в пробірки.

9) Струснути пробірки, щоб завершити розчинення H_3BO_3 (може залишитися чорний вуглицевий осад, але він не містить великої кількості металів і не заважає визначенню основних концентрацій).

10) Розбавити водою до мітки 50 мл.

11) Помістити в ультразвукову баню на 30 хв, щоб прискорити розчинення / повторне утворення суспензії борної кислоти й осаду.

12) Перед аналізом залишити пробу на ніч, щоб частинки осіли.

13) Розчини проби можна зберігати до аналізу протягом декількох днів, переважно при низькій температурі (+4°).

Паралельно для кожної серії аналізів потрібно підготувати, як мінімум, три холості проби. Вони готуються так само, як і проби, за винятком тієї обставини, що в ємності для розкладання не вносяться проби.

Для кожної групи аналізів потрібно підготувати в трьох екземплярах і використати, як мінімум, один контрольний розчин. Контрольний розчин повинен мати аналогічний пробам сполуки аналогічної концентрації.

Вище наведеним методом, з жовтня 2012 по квітень 2013 років нами було здійснено відбір та підготовку до аналізу 6-ти ґрунтових зразків, відібраних на заплавах агроєкосистемах приток р. Зх. Буг на території Львівської області:

Проба №1 – відібрана 18.10.22 р. р. Рата, витік (після м. Рава-Руська)

Проба №2 – відібрана 5.11.22р. р. Кам'янка, витік (після смт. Куликів);

Проба №3 – відібрана 24.01.23р. р. Рата, гирло (с. Межириччя)

Проба №4 – відібрана 24.11.22р р. Полтва, після о/с м. Львова

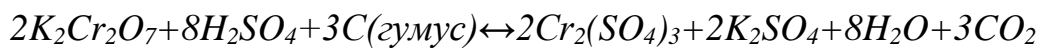
Проба №5 – відібрана 24.03.23р. у р. Полтва, гирло м. Буськ;

Проба №6 – відібрана 29.03.23р. у р. Кам'янка, гирло (після м. Кам'янка-Бузька);

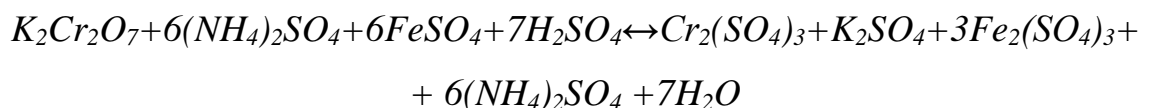
2.2. Визначення біохімічних властивостей ґрунту

2.2.1. Визначення гумусу у ґрунті за І.В.Тюрінім

Метод визначення базується на окисленні гумусових речовин ґрунту до діоксиду карбону за допомогою двохромовокислого калію у сульфатно-кислому середовищі. Даний процес схематично зображується за допомогою наступного рівняння:



За кількістю двохромовокислого калію ($K_2Cr_2O_7$), витраченого на реакцію окислення, судять про кількість гумусу у досліджуваному ґрунті. Залишок двохромовокислого калію, що не прореагував, визначають за допомогою титрування розчином $FeSO_4$ або солі Мора:



Методика дослідження.

Наважку 150-200 мг повітряно-сухого ґрунту поміщають у колбу на 100см^3 . Додають $10,0\text{см}^3$ 0,4 н розчину двохромовокислого калію і перемішують розчин. Колбу накривають лійкою і нагрівають до кипіння та кип'ятять суміш на протязі 5 хвилин, слідкуючи щоб розчин бурхливо не кипів.

Після цього розчин охолоджують до кімнатної температури (колір суміші має бути оранжевим). Додають $20-40\text{см}^3$ води, обмиваючи при цьому стінки колби, 4-5 крапель розчину фенілантранілової кислоти і титрують

стандартним розчином солі Мора до зміни забарвлення індикатора з вишнево-фіолетового на зелений.

Кількість органічного Карбону розраховують за формулою:

$$C = \frac{(a - б) \cdot K_m \cdot 100 \cdot 0,0006 \cdot K_{H_2O} \cdot 1,724}{P}$$

де: С – вміст гумусу у ґрунті, %;

а – об'єм 0,2 н розчину солі Мора, що пішов на титрування контролю, см³;

б – об'єм 0,2 н розчину солі Мора, що пішов на титрування досліджуваної проби, см³;

K_м – поправочний коефіцієнт до титру солі Мора;

0,0006 – кількість органічного Карбону, що відповідає 0,2 н розчину солі Мора, г;

1,724 – кількість органічного Карбону, що відповідає одному граму гумусу;

K_{H₂O} - коефіцієнт гігроскопічності для перерахунку на абсолютно суху наважку ґрунту;

P – наважка повітряно-сухого ґрунту, г [22].

2.2.2. Методика визначення активності інвертаз

Дана методика базується на гравіметричному визначенні кількості глюкози, що утворюється, як кінцевий продукт біохімічного розкладу сахарози в аеробних умовах за допомогою ферменту інвертази.

Вміст інвертаз визначали за градуювальним графіком. Побудова градуювального графіка з метою визначення інвертазної активності досліджуваних зразків ґрунту проводилась за допомогою розчину глюкози.

Градуювальник графік будували за наступниною методикою:

Побудова градуювального графіка для визначення інвертазної активності: готується декілька розчинів глюкози різної концентрації (0,005–

0,1 мг/дм³). Після цього відбирається по 8 см³ з кожного розчину і вносяться у скляні бюкси, попередньо зважені на аналітичних вагах. До розчинів різної концентрації додають 6 см³ свіжоприготовленого розчину Фелінга і суміш доводять до кипіння на плитці, яке підтримують на протязі 2-ох хвилин.

По припиненню кипіння бюкси знімають з плитки і залишають суміш відстоюватись на протязі 1-єї години для отримання осаду закису Купруму. Після промивання осаду бідистилятом його зважують. З одержаних даних будують градувальний графік залежності маси осаду закису Купруму від концентрації глюкози (рис. 2.1.)

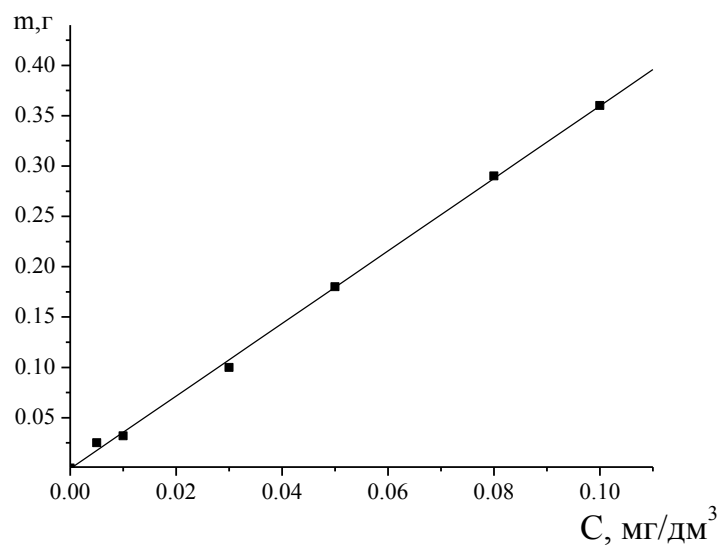


Рис. 2.2. Градувальний графік залежності маси осаду закису Купруму від концентрації глюкози

Методика дослідження:

Визначення інвертазної активності в дослідних ґрунтах проводили за наступною методикою: наважку повітряно-сухого ґрунту масою 2 г вносять в колбу об'ємом 100 см³, додають 5 см³ буферу (рН 4,9), 15 см³ 8 % розчину сахарози - субстрату, 4 краплі толуену – в якості антисептика. Вміст колби струшують, закривають корковою пробкою і ставлять у термостат на 24 години при температурі 29-30 °С.

Після експозиції вміст колби нагрівають на плитці до кипіння для припинення дії ферменту, після чого фільтрують. У попередньо зважені на аналітичних вагах бюкси вносять 8 см³ фільтрату.

До фільтрату додають 6 см³ свіжоприготовленого розчину Фелінга і суміш доводять до кипіння, яке підтримують на протязі 2-ох хвилин. Після припинення кипіння бюкси знімають з плитки і дають суміші відстоятися на протязі 1-єї години, щоб отримати осад закису Купруму. Після чого, обережно, не збовтуючи осад, відсмоктують рідину піпеткою.

Осад двічі промивають гарячою дистильованою водою, видаляють воду і поміщають бюкси з осадом у сушильну шафу та сушать при температурі 60-70 °С. Висушування продовжують до одержання осаду сталої маси.

Під час зважування бюкси з осадом поміщають в ексікатор з хлористим кальцієм.

Порівнюючи отриману масу з вихідною, знаходять масу осаду закису Купруму у 8 см³ розчину і за калібрувальним графіком знаходять концентрацію глюкози, що відповідає знайденій кількості оксиду Купруму.

Активність ферменту вираховується в мг глюкози на 10 г ґрунту за 24 години.

В якості контролю використовують ґрунт простерилізований протягом 1-єї години при 2 атмосферах

Розрахунок ферментативної активності інвертази (у перерахунку на 10 г повітряно-сухого ґрунту) проводять за формулою:

$$A(10 \text{ г ґрунту}) = C \cdot 125,$$

де: А – ферментативна активність інвертази, мг глюкози на 10 г ґрунту за 24 години;

С – концентрація глюкози, знайдена за калібрувальним графіком, мг/дм³

125 – перерахунок на 10 г ґрунту в 1000 см³ фільтрату [23].

2.2.3. Методика визначення активності дегідрогеназ

Дана методика базується на фотоколориметричному визначенні кількості трифенілформаза (ТФФ), що утворюється як кінцевий продукт біохімічного розкладу трифенілтетразоліа хлористого (ТТХ) в аеробних умовах за допомогою ферменту дегідрогенази. Вміст активності дегідрогеназ знаходять по градуювальному графіку.

Калібрування фотоелектроколориметра з метою визначення дегідрогеназної активності досліджуваних зразків ґрунту проводять за допомогою розчину трифенілформаза (ТФФ).

Колориметрування проводять при довжині світлової хвилі 540 нм, в кюветах з товщиною поглинаючого шару 0,5 см [16].

На рис. 2.2. побудовано градуювальний графік залежності оптичної густини від концентрації трифенілформаза (ТФФ).

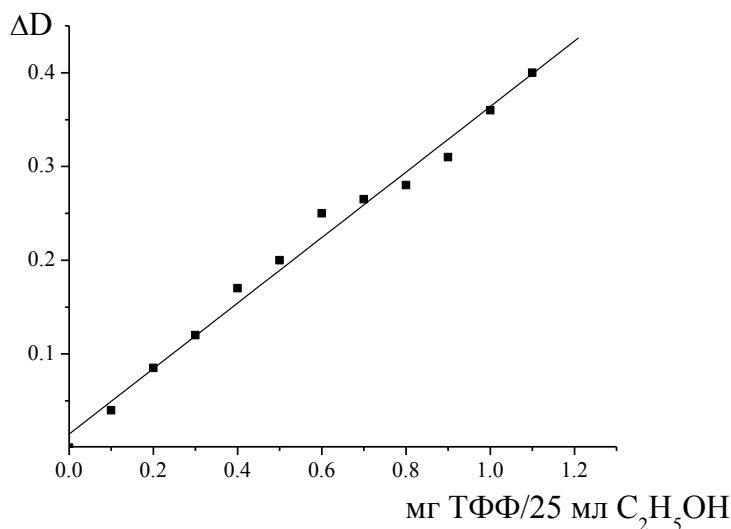


Рис. 2.2. Градувальний графік залежності оптичної густини ΔD від концентрації трифенілформаза.

Методика дослідження: Визначення активності дегідрогеназ проводять за наступною методикою: наважку повітряно-сухого ґрунту масою 1 г вносять у конусоподібні колби об'ємом 50 см³ з притертими пробками. Додають 10 мг карбонату кальцію і добре перемішують; після чого додають 1

см³ 0,1 М розчину субстрату дегідрування і 1 см³ 1 %-ого розчину 2,3,5-трифенілтетразонія хлористого.

Повітря з колби евакуують при розрідженні 10-12 мм.рт.ст. Колби обережно струшують і ставлять в термостат при 30 °С на 24 години.

Після інкубації в колби додають по 25 см³ етилового спирті, струшують на протязі 5-ти хвилин. Одержаний забарвлений розчин трифенілформаза на фільтрують і колеметрують при $\lambda=540$ нм, в кюветах з товщиною поглинаючого шару 0,5 см.

Розрахунок ферментативної активності дегідрогеназ (у перерахунку на 10 г повітряно-сухого ґрунту) проводять за формулою:

$$A = K \cdot 10 \cdot 35 \cdot D_x,$$

де: А – активність дегідрогеназ, ТФФ на 10 г ґрунту за 24 години;

К – коефіцієнт калібрування. Для кювети з товщиною поглинаючого шару 0,5 см К=0,21 – стала величина;

10 – перерахунок на 10 г ґрунту;

35 – розведення ($V_{\text{субстрату}} + V_{\text{ТТХ}} + V_{\text{H}_2\text{O}} + V_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = 1 + 1 + 8 + 25 = 35$);

$D_x - D - D_{\text{контроль}}$, де D – оптична густина досліджуваного зразку ґрунту;

$D_{\text{контроль}}$ – оптична густина контролю [24].

2.2.4. Методика визначення гранулометричного складу ґрунту

Зразок розтертого ґрунту зволожують і перемішують до тістоподібного стану. З підготовленого ґрунту на долоні роблять кульку і пробують зробити з неї шнур товщиною 3 мм, а потім звернути кільце діаметром 2-3 см.

Залежно від гранулометричного складу ґрунту результати будуть різні:

- пісок – не утворює ні кульки, ні шнура;
- супісок – утворює кульку, розкачати шнур не вдається, утворюються тільки зачатки шнура;
- легкий суглинок – розкачується в шнур, але дуже нестійкий, легко розпадається на частинки, при розкачуванні або знятті з долоні;

- середній суглинок – утворює суцільний шнур, який можна звернути у кільце з тріщинами і переломами;
- важкий суглинок – легко розкачується в шнур, утворює кільце з тріщинами;
- глина – утворює довгий тонкий шнур, котрий потім легко утворює кільце без тріщин [25].

2.3. Визначення важких металів у донних відкладеннях за допомогою полум'яної ААС

Визначення вмісту металів здійснювали методом атомно-абсорбційної спектроскопії з використанням полуменевого ААС КАС -120.1 з електротермічним атомізатором схема якого представлена на рис. 2.4.

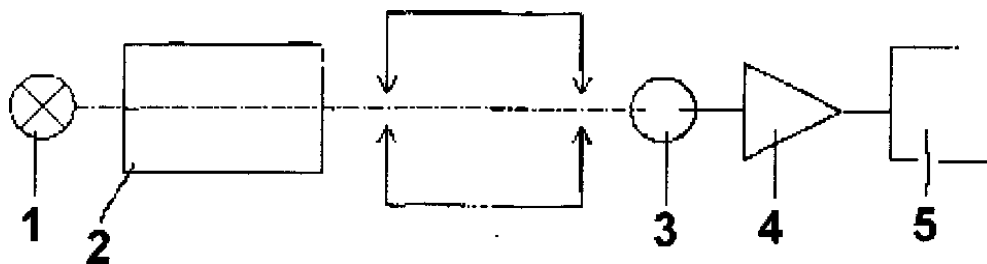


Рис. 2.4. Функціональна схема атомно-абсорбційного спектрофотометра:

1 - джерело випромінювання; 2 - атомізатор; 3 - проба; 4 - монохроматор; 5 - фотоприймач.

Проби розкладають сильною кислотою (див.). Атомно-абсорбційна спектрометрія нагадує емісійну полум'яну фотометрію в тому розумінні, що розчин проби випаровується в полум'ї й розпорошується. У полум'яної ААС промінь світла направляється через полум'я в монохроматор і далі на детектор, що вимірює кількості світла, поглиненого елементом у полум'ї. Кожен метал має власну характерну довжину хвилі, тому використовується

порожня електродна лампа, виготовлена із цього елемента. Кількість енергії, що поглинає при характерній довжині хвилі, пропорційно концентрації елемента в пробі.

У випадку з полум'ям вимірюється кількість світла, що випускає на характерній для аналізованого елемента довжині хвилі.

Умови аналізу залежать від елемента й можуть відрізнятися, тому необхідно спочатку уважно ознайомитися з методикою аналізу ААС до початку аналізу.

По ймовірних концентраціях металів у пробі визначається калібрована крива; ураховується лінійність відгуку ААС для відповідного елемента (крива поглинання - концентрації представлена в посібнику з методів аналізу). Вміст металів визначали за калібрувальними кривими, побудованими по стандартних концентраціях відповідних металів

Розрахунок. Розрахунок вмісту металу здійснюють за формулою:

$$C(\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{(C_d - C_b) \times V \times F}{W} \quad (2.3)$$

Де:

C концентрація елемента у вихідній пробі (мкг/г або вага сухого зразка);

C_d концентрація елемента в розчині проби (мкг/мол);

C_b середня концентрація елемента в неодружених реагентах (мкг/мол);

V об'єм розчинення розкладеного розчину (мол);

W суха вага проби (г);

F при необхідності коефіцієнт розчинення (=1, якщо під час процедури розкладання використалося тільки вихідне розведення).

2.3.2. Статистична обробка одержаних результатів.

Обробку отриманих результатів проводили за допомогою “статистичної обробки результатів”.

При статистичній обробці результатів хімічного аналізу вираховують:

1. *Середнє значення (X)* – середнє арифметичне значень виборки:

$$x = \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{n}. \quad (2.1)$$

При невеликій кількості дослідів правильніше використовувати *медіану* M – середнє значення ряду послідовних величин. Якщо n парне, то медіану розраховують як середнє значення середніх результатів виборки. При симетричному розподілі результатів M рівне X.

Іноді для оцінки центру розподілу серії результатів використовують *моду* – значення, яке найбільш часто зустрічається у виборці. Перевагою використання моди є простота і швидкість її знаходження. При симетричному розподілі результатів мода, медіана і середнє є тотожними.

2. *Стандартне відхилення (S)* – його виражають як квадратний корінь середнього значення квадратів окремих відхилень від середнього:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2.2)$$

3. *Відносне стандартне відхилення (S_r)* – використовують частіше, так як воно має теоретичну основу і може використовуватись для оцінки відтворюваності різних методів:

$$S_r = \frac{S}{X} \quad (2.3)$$

4. *Інтервал достовірних значень* може бути використаний і для оцінки правильності методу, якщо він позбавлений систематичної похибки. Особливо важливо передбачити, в яких межах найбільш ймовірна відповідність середнього значення істинному (μ). Ймовірність такого передбачення не

може бути 100%; завжди є довірна ймовірність Р. Для більшості аналітичних методів ця величина приймається рівною 95%. Інтервал довірчих значень визначається кривою t-розподілу (розподіл Стюдента) і розраховується за формулою:

$$\varepsilon_{P,n} = t_{P,n} \cdot \frac{S}{\sqrt{n}}, \quad (2.4)$$

де - коефіцієнт Стюдента при ймовірності Р=0,95 в залежності від кількості паралельних дослідів n набуває значень:

5. *Результати аналізу представляють у вигляді:*

$$(\bar{X} \pm \varepsilon_{P,n}) \quad (2.5)$$

6. Іноді доцільно обрахувати *відносну похибку визначення (W):*

$$W = \frac{\varepsilon_{P,n}}{\bar{X}} \cdot 100\% \quad (2.6)$$

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Визначення вмісту гумусу у досліджуваних ґрунтах

Визначення гумусу в досліджуваних зразках ґрунту проводили згідно методики описаної в розділі 2.2.1. Одержані результати представлені в табл. 5 та на рис. 3.1.

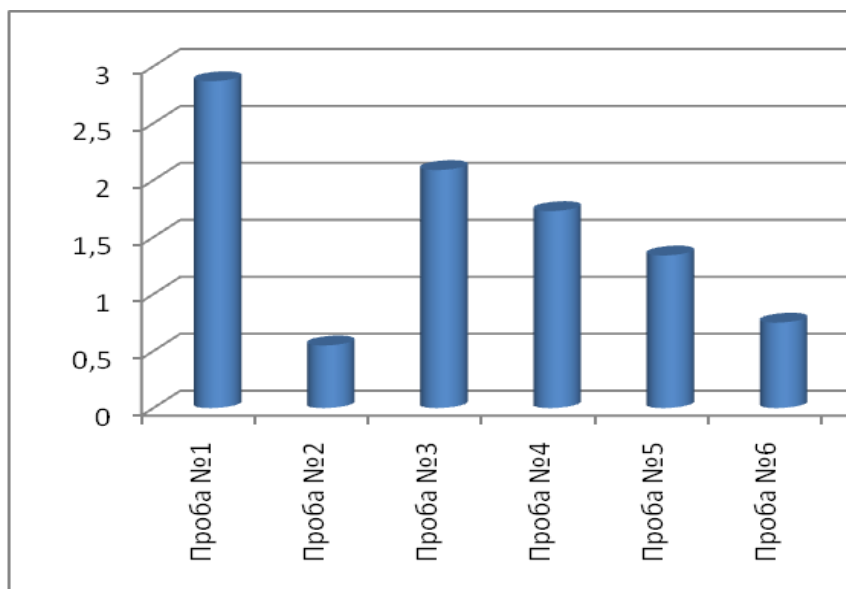


Рис. 3.1. Величина вмісту гумусу у досліджуваних ґрунтах заплави приток річки Зх.Буг

Таблиця 5

Результати визначення вмісту гумусу у пробах ґрунту (n=3, p=0,95)

| № проби | Вміст гумусу, % | Статистична обробка | |
|---------|-----------------|------------------------------|-------|
| | | $\bar{x} \pm \epsilon_{p,n}$ | S_r |
| 1 | 2,87 | 2,87±0,05 | 0,000 |
| 2 | 0,55 | 0,55±0,06 | 0,031 |
| 3 | 1,73 | 1,73±0,25 | 0,029 |
| 4 | 1,34 | 1,34±0,09 | 0,015 |
| 5 | 0,75 | 0,75±0,09 | 0,015 |
| 6 | 0,81 | 0,81±0,09 | 0,003 |

Примітка: - середнє значення, $\epsilon_{p,n}$ - інтервал достовірних значень; S_r – відносне стандартне відхилення

;

Згідно даних таблиці 5 та рис. 3.1. значення вмісту гумусу коливалось в межах від 0,55 % до 2,87 %. Така різниця коливання значень вмісту гумусу у досліджуваних пробах ґрунтів приток заплави річки Зх. Буг зумовлені, на нашу думку, різним ступенем їх сільськогосподарського обробітку, тобто буде залежать від рівня меліорації та удобрення орних земель, а також антропогенним вкладом у таких міст як Львів та .

3.2. Активність деяких ґрунтових ферментів досліджуваних заплавних ґрунтів приток р. Зх Буг

3.2.1 Інвертазна активність

Інвертазну активність визначали згідно методики представленої в розділі Результати визначення активності інвертази у пробах ґрунту приведені в таблиці 6 та рис. 3.2.

З отриманих результатів бачимо, що значення активності інвертаз у пробах ґрунту знаходилась в межах від 4,05 мг глюкози на 10 г ґрунту за добу до 10,57 мг глюкози на 10 г ґрунту за добу. Незакономірні випадки підвищення активності даного ферменту пов'язані, очевидно, з підвищеним вмістом гумусу у ґрунтах та його відносно легким механічним складом.

З отриманих результатів бачимо, що значення активності інвертаз у пробах ґрунту знаходилась в межах від 4,05 мг глюкози на 10 г ґрунту за добу до 10,57 мг глюкози на 10 г ґрунту за добу. Незакономірні випадки підвищення активності даного ферменту пов'язані, очевидно, з підвищеним вмістом гумусу у ґрунтах та його відносно легким механічним складом.

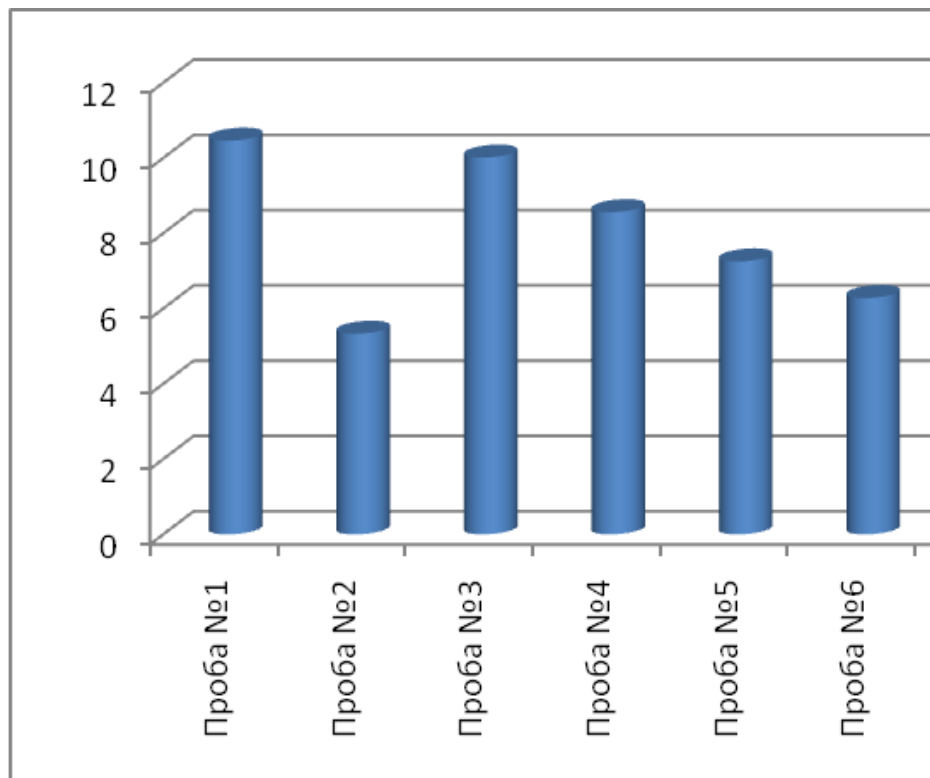


Рис. 3.2. Активність інвертаз у досліджуваних ґрунтах заплави річки Зх.Буг за період дослідження

Таблиця 6

Результати визначення активності інвертаз у пробах ґрунту
(n=3, p=0,95)

| № проби | Активність інвертази, мг глюкози на 10 г ґрунту/24 год. | Статистична обробка | |
|---------|---|---------------------------------|-------|
| | | $\bar{x} \pm \varepsilon_{p,n}$ | S_r |
| 1 | 10,46 | 10,46±0,08 | 0,005 |
| 2 | 5,33 | 5,335±0,08 | 0,006 |
| 3 | 8,56 | 8,56±0,08 | 0,007 |
| 4 | 7,25 | 7,25±0,15 | 0,008 |
| 5 | 6,28 | 6,28±0,08 | 0,003 |
| 6 | 5,81 | 5,81±0,18 | 0,007 |

Примітка: - середні значення, $\varepsilon_{p,n}$ - інтервал достовірних значень; S_r – відносне стандартне відхилення

;

3.2.2. Дегідрогеназна активність

Активність дегідрогеназ визначали згідно методики представленої в розділі 2

Результати визначення активності дегідрогеназ у пробах ґрунту та їх статистична обробка представлена у таблиці 7. та на рис. 3.3.

Таблиця 7

Результати визначення активності дегідрогеназ у пробах ґрунту
(n=3, p=0,95)

| № проби | Активність дегідрогеназ, мг ТФФ на 10 г ґрунту/24год | Статистична обробка | |
|---------|--|---------------------------------|-------|
| | | $\bar{x} \pm \varepsilon_{p,n}$ | S_r |
| 1 | 6,26 | 6,26±0,00 | 0,000 |
| 2 | 2,5 | 2,5±0,05 | 0,050 |
| 3 | 4,42 | 4,42±0,00 | 0,000 |
| 4 | 4,27 | 4,27±0,00 | 0,000 |
| 5 | 2,92 | 2,92±0,00 | 0,000 |
| 6 | 2,81 | 2,81±0,05 | 0,007 |

Примітка: - середнє значення, $\varepsilon_{p,n}$ - інтервал достовірних значень; S_r – відносне стандартне відхилення

Як бачимо, величина активності дегідрогеназ у зразках ґрунту, згідно отриманих даних, значно підвищилась і складала від 2,5 мг ТФФ на 10 г ґрунту до 6,26 мг ТФФ на 10 г ґрунту.

Зменшення ж показника активності дегідрогеназ, на нашу думку, більшою мірою пов'язане з їх високою чутливістю, порівняно з інвертазами, до рівня антропогенного забруднення, зокрема, із забрудненням досліджуваної території сполуками важких металів.

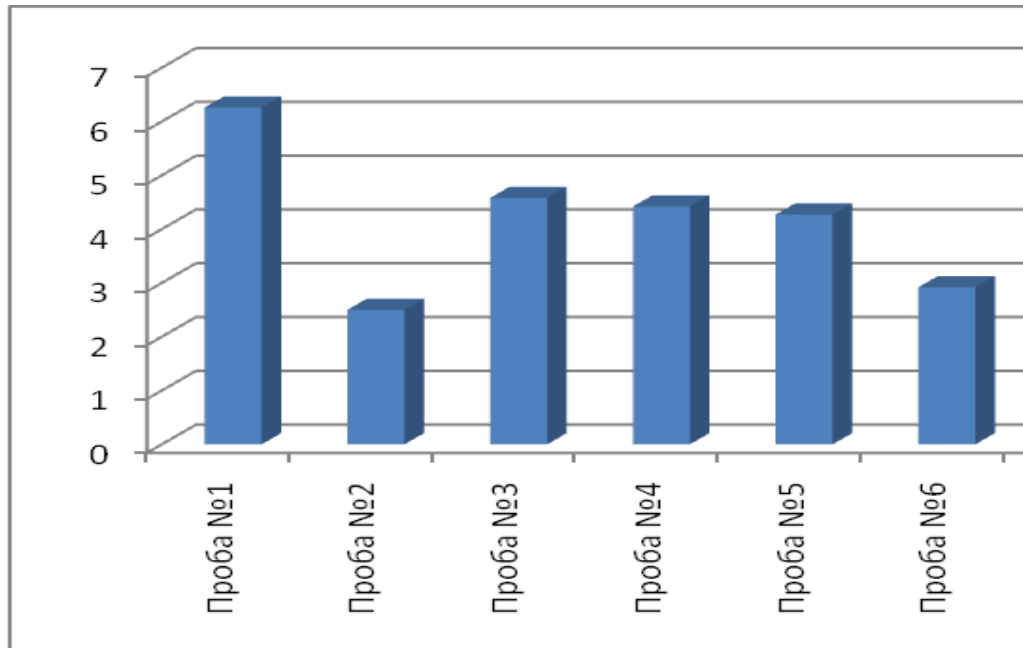


Рис. 3.3. Активність дегідрогеназ у досліджуваних ґрунтах заплави річки Зх. Буг за період обстеження.

Зокрема, для ґрунтів з високим вмістом солей важких металів властива низька активності дегідрогеназ. І навпаки, там де вміст солей важких металів незначний, спостерігаються висока дегідрогеназна активність ґрунтів.

3.4. Визначення вмісту важких металів

3.4.1. Визначення вмісту Плюмбуму

Визначення вмісту Плюмбуму в досліджуваних зразках донних відкладів здійснювали згідно методики представленої в розділі 2. Отримані результати наведені на рис.3.4 та в табл.3.5.

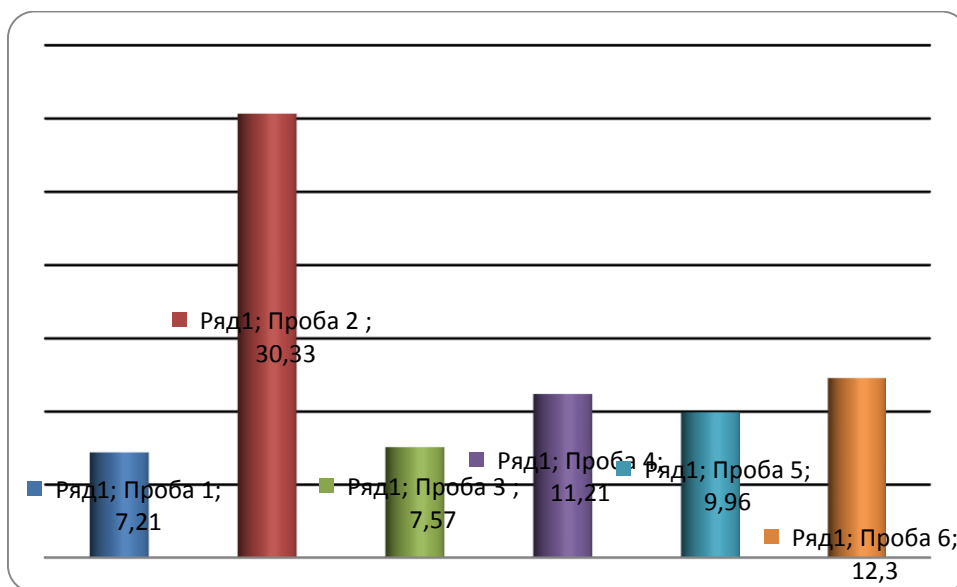


Рис. 3.4. Вміст Плюмбуму мг/кг у досліджуваних ґрунтах заплави річки Зх. Буг за період обстеження

Як бачимо, що взагалі вміст Плюмбуму не перевищує ГДК проте в деяких випадках його концентрація є досить висока, а в пробах 2 і 8 наближається до ГДК. Такий вміст даного металу в донних відкладах зумовлений антропогенним навантаженням на дану ділянку річки. Слід відмітити, що отримані результати по вмісту Плюмбуму в загальному корелюються з я з вмістом інвертази у даних пробах. При збільшенні концентрації металу – спостерігається зменшення активності даного ферменту.

Результати визначення концентрації Плюмбуму у пробах ґрунту
(n=3, p=0,95)

| № проби | C _{Pb} мг/кг | Статистична обробка | | ГДК мг/кг |
|---------|-----------------------|---------------------------------|----------------|-----------|
| | | $\bar{x} \pm \varepsilon_{p,n}$ | S _r | |
| 1 | 7,21 | 7,21±0,18 | 0,007 | 32 |
| 2 | 28,50 | 28,50±0,08 | 0,007 | |
| 3 | 7,57 | 7,57±0,08 | 0,003 | |
| 4 | 11,20 | 11,20±0,15 | 0,008 | |
| 5 | 9,96 | 9,96±0,10 | 0,005 | |
| 6 | 12,31 | 12,31±0,08 | 0,005 | |

3.4.2. Визначення вмісту Цинку

Визначення вмісту Цинку в досліджуваних зразках донних відкладів здійснювали згідно методики представленої в розділі 2. Отримані результати наведені на рис.3.4 та в табл.3.6.

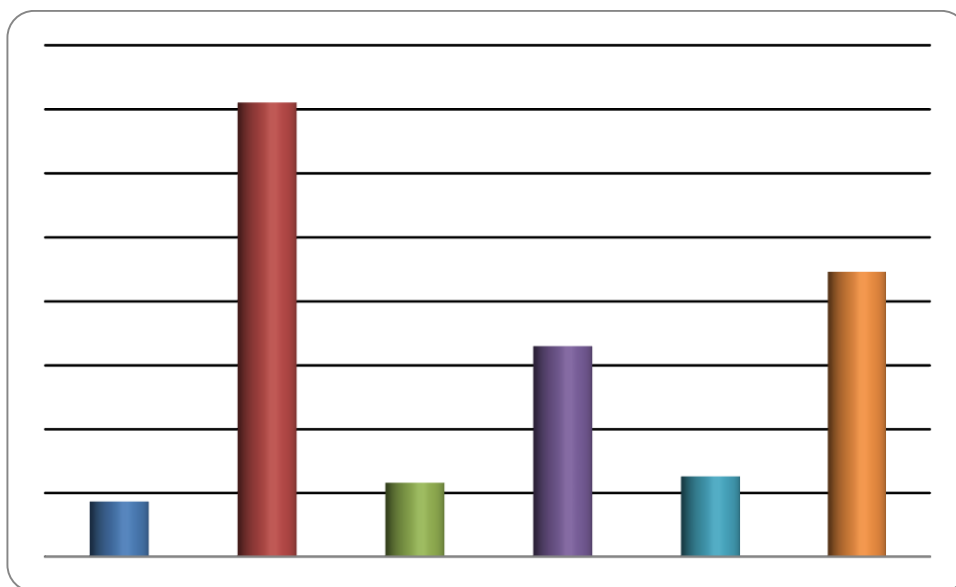


Рис. 3.5. Вміст Цинку у досліджуваних ґрунтах заплави річки Тиса за період обстеження

Таблиця 3.6

Результати визначення концентрації Цинку у пробах ґрунту (n=3, p=0,95)

| № проби | C _{Zn} мг/кг | Статистична обробка | | ГДК мг/кг |
|---------|-----------------------|---------------------------------|----------------|-----------|
| | | $\bar{x} \pm \varepsilon_{p,n}$ | S _r | |
| 1 | 5,21 | 5,21±0,18 | 0,007 | 100 |
| 2 | 38,50 | 38,50±0,08 | 0,007 | |
| 3 | 13,20 | 13,20±0,08 | 0,003 | |
| 4 | 16,20 | 16,20±0,15 | 0,008 | |
| 5 | 4,96 | 4,96±0,10 | 0,005 | |
| 6 | 5,31 | 5,31±0,08 | 0,005 | |

З приведених результатів видно, що хоча вміст цинку і не перевищує ГДК проте в деяких випадках його концентрація є досить висока, а в пробах 2 і 8 наближається до ГДК. Такий вміст даного металу в донних відкладах зумовлений антропогенним навантаженням. Як бачимо – отриманні дані по концентрації Цинку коригуються з вмістом інвертази у даних пробах.

3.4.3. Визначення вмісту Купруму

Визначення вмісту Купруму в досліджуваних зразках донних відкладів здійснювали згідно методики представленої в розділі 2. Отримані результати наведені на рис. та в табл..

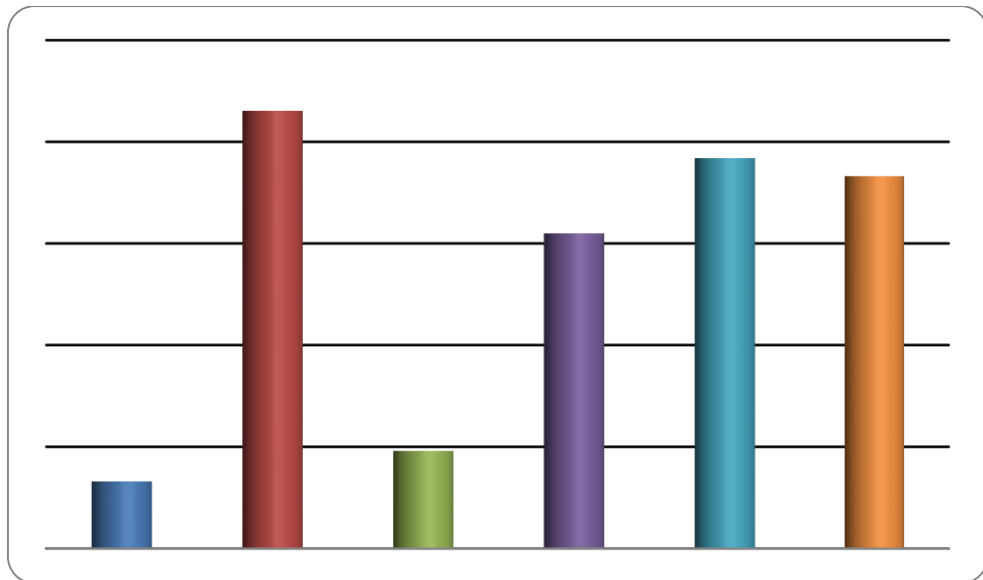


Рис. 3.6. Вміст Купруму у досліджуваних ґрунтах заплави річки Зх Буг за період обстеження

З приведених результатів видно, що хоча вміст Купруму і не перевищує ГДК проте в деяких випадках його концентрація є досить висока, а в пробах 2 і 8 наближається до ГДК. Такий вміст даного металу в донних відкладах зумовлений антропогенним навантаженням. Як бачимо – отриманні дані по концентрації Купруму коригуються з вмістом інвертази у даних пробах

Таблиця 3.7

Результати визначення концентрації Купруму
у пробах ґрунту (n=3, p=0,95)

| № проби | C _{Cu} мг/кг | Статистична обробка | | ГДК мг/кг |
|---------|-----------------------|---------------------------------|----------------|-----------|
| | | $\bar{x} \pm \varepsilon_{p,n}$ | S _r | |
| 1 | 3,21 | 3,21±0,18 | 0,007 | 50 |
| 2 | 21,50 | 21,50±0,08 | 0,007 | |
| 3 | 4,20 | 4,20±0,08 | 0,003 | |
| 4 | 15,20 | 15,20±0,15 | 0,008 | |
| 5 | 18,96 | 18,96±0,10 | 0,005 | |
| 6 | 16,31 | 16,31±0,08 | 0,005 | |

3.4.4. Визначення вмісту Кадмія

Визначення вмісту Кадмія в досліджуваних зразках донних відкладів здійснювали згідно методики представленої в розділі 2. Отримані результати наведені на рис. та в табл..

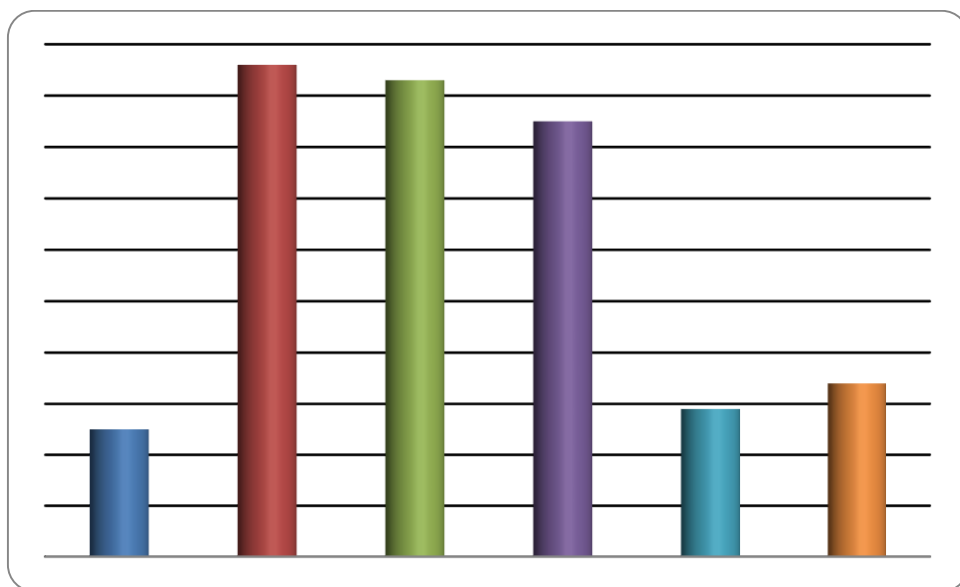


Рис. 3.7. Вміст Кадмію у досліджуваних ґрунтах заплави річки Зх Буг за період обстеження

Таблиця 3.8

Результати визначення концентрації Кадмія
у пробах ґрунту (n=3, p=0,95)

| № проби | C _{Cu} мг/кг | Статистична обробка | | ГДК мг/кг |
|---------|-----------------------|---------------------------------|----------------|-----------|
| | | $\bar{x} \pm \varepsilon_{p,n}$ | S _r | |
| 1 | 0,25 | 0,25±0,18 | 0,007 | 1 |
| 2 | 0,96 | 0,96±0,08 | 0,007 | |
| 3 | 0,93 | 0,93±0,08 | 0,003 | |
| 4 | 0,85 | 0,85±0,15 | 0,008 | |
| 5 | 0,29 | 0,29±0,10 | 0,005 | |
| 6 | 0,34 | 0,34±0,08 | 0,005 | |

З приведених результатів видно, що в основному вміст Кадмія не перевищує ГДК проте в деяких випадках його концентрація є досить висока, а в пробах 2 і 8 перевищує ГДК для даного елемента. Такий вміст даного металу в донних відкладах зумовлений антропогенним навантаженням. Як бачимо – отриманні дані по концентрації Кадмія коригуються з вмістом інвертази у даних пробах.

4. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Під час вивчення біологічних властивостей заплавних ґрунтів, відібраних на заплавах агроecosystem приток річки Зх. Буг, нами було визначено такі показники біологічного моніторингу, як ферментативна активність ґрунтів (інвертазна, дегідрогеназна) та вміст гумусу. Поряд з цим досліджено грануметричний склад ґрунту, як одну із складових його фізико-механічних властивостей.

Зведені результати біологічних властивостей ґрунтів відібраних на заплавах агроecosystem приток р. Зх. Буг у Львівській області представлені у табл. 9

Відповідно до даних статистичного та кореляційного аналізу значення вмісту гумусу та активності інвертаз встановлено незначний прямопропорційний кореляційний зв'язок між їх величинами, який не знайдено в випадку кореляційного аналізу між вмістом гумусу та активністю дегідрогеназ. Це пояснюється безпосередньою участю інвертаз, за участю мікроорганізмів, у розкладі рослинних решток, а також синтезі та перетворенні гумусових речовин ґрунту.

Якщо порівнювати графічні дані, що характеризують динаміку зміни активності ферментів та величину вмісту гумусу (рис. 3.1 – 3.3), відмічено, що у випадку інвертаз (рис. 3.2) спостерігається підвищення їх активності вгору за течією ріки Зх. (рис. 3.3).

Зокрема, для ґрунтів з високим вмістом солей важких металів властиве низька активності дегідрогеназ. І навпаки, там де вміст солей важких металів незначний, спостерігаються висока дегідрогеназна активність ґрунтів (табл.4.2).

Таблиця 4.1

Результати визначення вмісту гумусу та активності інвертаз та дегідрогеназ у пробах ґрунту

| № проби | Вміст гумусу, % | Активність інвертаз, мг глюкози на 10 г ґрунту/24год | Активність дегідрогеназ, мг ТФФ на 10 г ґрунту/24год |
|---------|-----------------|--|--|
| 1 | 2,87 | 10,46 | 6,26 |
| 2 | 0,55 | 5,33 | 2,5 |
| 3 | 1,73 | 8,56 | 4,42 |
| 4 | 1,34 | 7,25 | 4,27 |
| 5 | 0,75 | 6,28 | 2,92 |
| 6 | 0,81 | 5,81 | 2,81 |

Таке підвищення рівня активності інвертаз пов'язане, на нашу думку, з їх прямою залежністю від вмісту гумусу. Зменшення ж показника активності дегідрогеназ більшою мірою пов'язане з їх високою чутливістю, порівняно з інвертазами, до рівня антропогенного забруднення, зокрема, із забрудненням досліджуваної території сполуками важких металів.

Зокрема, для ґрунтів з високим вмістом солей важких металів властиве низька активності дегідрогеназ. І навпаки, там де вміст солей важких металів незначний, спостерігаються висока дегідрогеназна активність ґрунтів.

Незважаючи на можливо малорухому форму перебування даних металів в намулі, при певних впливах можливе утворення рухомих форм даних металів та забруднення ними води або інших об'єктів навколишнього середовища. Так, при паводках на заплави річки може бути винесено частину такого мулу, що призведе до забруднення ґрунтів. Потенційної загрози являють 2 процеси – різке закислення води річки, що призведе до утворення рухомих форм

важких металів та поступове зростання хлоридів, які можуть утворювати утворювати розчинні комплекси сполук важких металів.

Таблиця 4.2.

Результати визначення вмісту важких металів у пробах ґрунту

| № проби | C _{Cd} мг/кг | C _{Cu} мг/кг | C _{Zn} мг/кг | C _{Pb} мг/кг |
|---------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. | 0,25 | 3,21 | 5,21 | 7,21 |
| 2. | 0,96 | 21,50 | 38,50 | 28,50 |
| 3. | 0,93 | 4,20 | 13,20 | 7,57 |
| 4. | 0,85 | 15,20 | 16,20 | 11,20 |
| 5. | 0,29 | 18,96 | 4,96 | 9,96 |
| 6. | 0,34 | 16,31 | 5,31 | 12,31 |

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено, що активність інвертаз більшою мірою залежить від вмісту гумусу у ґрунті. Згідно даних дослідження вмісту важких металів, дегідрогенази виявляють більшу чутливість, порівняно з інвертазами, до антропогенного забруднення ґрунтів сполуками важких металів. Це дає можливість використовувати дегідрогенази, як біоіндикатор, щодо забруднення ґрунтів важкими металами.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено, що активність інвертаз більшою мірою залежить від вмісту гумусу у ґрунті. Згідно даних дослідження вмісту важких металів, дегідрогенази виявляють більшу чутливість, порівняно з інвертазами, до антропогенного забруднення ґрунтів сполуками важких металів. Це дає можливість використовувати дегідрогенази, як біоіндикатор, щодо забруднення ґрунтів важкими металами.

РОЗДІЛ 5

ОХОРОНА ПРАЦІ

5.1. Аналіз стану охорони праці

Законодавство України про охорону праці містить наступні нормативні документи: Закон України “Про охорону праці” від 21.11.2002 р.; Кодекс законів України про працю, ДсаНПіН 3.3.2-007-98 та ДНАОП 0.00-1.31 -99.

В хімічній лабораторії завданням охорони праці є зведення до мінімуму захворюваності працівників з одночасним забезпеченням комфорту при максимальній продуктивності праці. Охорона праці передбачає можливі причини нещасних випадків, професійних захворювань, вибухів, пожеж і розробляє систему заходів та вимог з метою усунення цих причин і створення безпечних та сприятливих для людини умов праці. Покращення умов праці, підвищення її безпеки і зниження шкідливості позитивно впливає на результати діяльності - продуктивність та якість праці, інші показники.

Хімічна лабораторія – об'єкт підвищеної небезпеки та шкідливості. В лабораторії відбувається безпосередній контакт людини з горючими та отруйними речовинами. Знання класу небезпечності реактивів, особливостей їх токсичної дії, методів надання першої медичної допомоги сприяє безпечному виконанню робіт. Згідно ГОСТу 12.0.00-79 до робіт в хімічних лабораторіях допускаються особи, які пройшли медичне обстеження та інструктаж з техніки безпеки, а також інструктаж на робочому місці.

Згідно нормативному документу ОНТП-24-86 хімічну лабораторію за вибухопожежонебезпечністю відносять до категорії В. До цієї категорії лежать приміщення, в яких знаходяться ЛЗР з температурою спалеху 61 °С в таких кількостях, що не здатні утворювати вибухові суміші у всьому об'ємі. Ці речовини локалізовані у певному місці (у витяжній шафі або у металевих ящиках), де немає джерела запалювання.

Лабораторія згідно вимогам охорона праці оснащена природним і штучним освітленням, приточно-витяжною вентиляцією, холодним і гарячим водопостачанням, каналізацією, газом. Передбачено водяне опалення, яке забезпечує нормальний температурний режим. Стіни покриті водоемульсійною фарбою, а підлога лабораторії покрита лінолеумом, що дозволяє проводити вологе прибирання.

В місцях установки санітарно-технічних приладів і обладнання, що спричиняє зволоження стін вони покриті керамічною плиткою на висоту 1,8 м. Двері у приміщеннях лабораторії відкриваються до виходу. Лабораторії обладнані мийками з холодною і гарячою водою для миття рук і мийками для миття лабораторної посуду та інвентаря.

Всі працівники проходять навчання та перевірку знань з питань роботи і застосування газових пристроїв.

На вводі газової мережі і мережі водопостачання встановлені запірні крани, які закриваються в кінці робочого дня. Газові пальники на робочих столах і у витяжних шафах також обладнані кранами. Періодично, згідно графіку, проводяться навчання з техніки безпеки та інструктаж персоналу на робочих місцях [29].

4.2. Правила техніки безпеки при роботі в хімічній лабораторії

В хімічній лабораторії приходиться мати справу з багатьма отруйними, вибухо- та вогнебезпечними речовинами, робота з якими потребує особливої уваги.

✓ Випаровування летких сполук слід проводити лише у витяжній шафі. Не можна залишати без нагляду водяні бані, електричні плитки та інші електронагрівальні прилади.

✓ Концентровані розчини кислот, лугів, а також токсичні речовини набирають спеціальними піпетками (із грушею).

✓ При нагріванні розчинів у пробірці слід користуватись пробіркодержачем. Ефект реакції спостерігають збоку, тримаючи пробірку на рівні очей. Нагріваючи рідину в пробірці, слід тримати її отвором у глибину витяжної шафи. При цьому слід уникати місцевого перегріву, внаслідок чого рідину може викинути з пробірки.

✓ Для набирання рідини піпеткою бажано користуватись грушею, а не засмоктувати рідину ротом.

✓ Неприпустимо працювати з вибухо- та вогнебезпечними речовинами поблизу пальника з відкритим вогнем чи нагрівального приладу.

✓ Категорично забороняється пробувати реактиви на смак. Нюхати будь-які речовини слід з обережністю, не нахилиючись над посудиною, а спрямовуючи до себе пару чи газ рухами руки.

✓ Гарячі предмети ставлять на керамічну плитку чи спеціальну підставку.

✓ Ніколи не вживайте їжу в лабораторії. Після закінчення роботи ретельно вимийте руки.

ВИСНОВКИ

1. Згідно результатів визначення активності ґрунтових ферментів в забруднених заплавних ґрунтах приток р. Зх. Буг встановлено, що активність інвертаз більшою мірою залежить від вмісту гумусу у ґрунті, ніж дегідрогеназна.

2. Активність дегідрогеназ та інвертаз значною мірою залежить від гранулометричного складу ґрунту. В ґрунтах легкого механічного складу величина активності інвертаз коливається в межах від 4,17 до 10,46 мг глюкози на 10 г ґрунту за добу. Активність дегідрогеназ для цих ґрунтів становить 2,21 – 6,25 76 мг ТФФ на 10 г ґрунту за 24 години.

3. Значення інвертазної активності заплавних ґрунтів поступово зменшується відповідно до розміщення досліджуваних ділянок вниз за течією ріки Зх. Буг; це саме явище спостерігається і для дегідрогеназ – зменшення значень їх активності в цьому ж напрямку.

4. Такі значення активності досліджуваних ґрунтових ферментів свідчать про погіршення якості ґрунтів заплавних агроєкосистем басейну річки Зх. Буг в напрямку від витoku до за досліджуваній період.

5. Визначено вміст деяких важких метал в досліджуваних зразках ґрунтів заплавних агроєкосистем басейну річки Зх Буг.

6. Виявлено, що для ґрунтів з високим вмістом солей важких металів властиве низька активності дегідрогеназ. І навпаки, там де вміст солей важких металів незначний спостерігаються висока дегідрогеназна активність ґрунтів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Джигерій В.С. Екологія та охорона навколишнього природного середовища. – К.: Знання, 2002. – 203с.
2. Набиванець Б.Й., Сухан В.В., Калабіна Л.В. Аналітична хімія природного середовища: Підручник для студентів природничих спеціальностей. ВНЗ. –К.: Либідь, 1996. – 304с.
3. Родючість ґрунтів. Моніторинг та управління / За ред. В.В. Медведєва. –К.: Урожай, 1992. – 378с.
4. Марискевич О.Г., Шпаківська І.М. Вплив антропопресії на біотичну активність ґрунтів у екосистемах Українських Карпат // Науковий вісник УжНУ. Серія: Біологія. –2018. –№9. –С.26-28.
5. Польшина С.М. Ґрунтознавство. Головні типи ґрунтів. –Чернівці: Рута, 2021. –240с.
6. Заставецька О.В., Заставецький Б.І., Дітчук І.Л., Ткач Д.В. Географія Закарпатської області – Тернопіль: Підручники і посібники, 1996. –С.96.
7. Ренезов Н.П. Ґрунти, їх властивості і поширення. Вид-во “Радянська школа”, 2012. –276с.
8. Лактінов М.І. Агроґрунтознавство. Навч. Посібник / Харк. Держ. Аграр.ун-т. ім. В.В. Докучаєва. –Харків: Видавець Шуст А.І., 2021. –335с.
9. Добровольський Г.В., Никитин Е.Д. Функции почв в биосфере и экосистемах. –М.: Наука, 1990. –261с.
10. Назаренко І.І., Польшина С.М., Нікорич В.А. Ґрунтознавство: Підручник. – Чернівці, 2003. –400с.
11. Гришко В.Н. біологічна активність ґрунтів, при дії фосфоровмісних промислових відходів // Доп. Нац. АН України –2000. №6. – С.192-198. -рус.; рез. анг.
12. Стефурак В.П., Водославский В.М. Ферментативна активність ґрунту, як біоіндикатор аеротехногенного забруднення. // Науковий вісник УжНУ. Серія: Біологія. – 2001. – №9. –С.153-155.

13. Мосс Д. Ферменти. М.: Мир, 2010. –128с.
14. Ніколайчук В.І., Білик П.П. Лабораторно-практичні роботи з ґрунтознавства. –Ужгород: ВАТ “Патент”, 1997. –112с.
15. Заставецька О.В., Заставецький Б.І., Дітчук І.Л., Ткач Д.В. Географія Львівської області – Тернопіль: Підручники і посібники, 1996. – С.96.
16. Техноекологія : навч. посіб. / [Масікевич Ю. Г., Гринь Г. І., Солодкий В. Д. та ін.]. - Чернівці : Зелена Буковина, 2006. - 192 с.
17. Тихий В.. Нормативні та практичні аспекти виконання оцінки впливу на навколишнє середовище. Тихий В., Яроват Л. //-К.:Веселка,2002.-150с.
18. Тільман Л., Ковальчук. О. Екологія Львівщини./Бюлетень.; Держуправління екобезпеки в Львів, обл. – Львів, 1999. – 92с.
19. Федішин Б.М. Хімія та екологія атмосфери: Навч. Посіб./За ред. Федішина Б.М./ – К.: Алеута, 2003. – 272с.