

Рис. 2. Номограми $R - T$ при $\lambda = 800$ нм, різних σ і C (а), різних σ і ρ (б)

Після того, як знайдені C і σ , перейдемо до визначення S .

Для визначення ступеня оксигенації крові необхідно виміряти R або T на інших довжинах волн. На рис. 3 побудовані залежності R і T від S при $C = 0.1$. Видно, що з удаленням від $\lambda = 800$ нм чутливість R і T до S зростає. Це пов'язано зі специфікою спектрів поглинання окси- і дезоксигемоглобіна. Збільшення товщини слоя також збільшує чутливість визначення S по T .

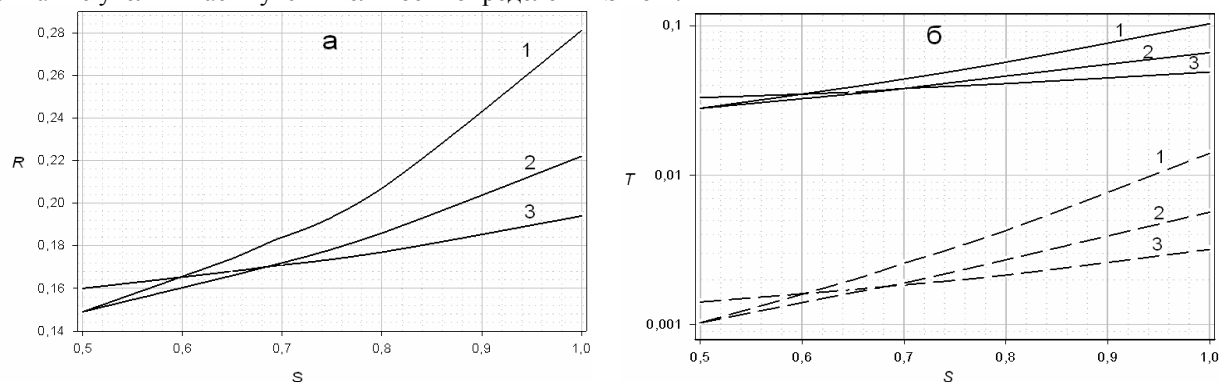


Рис. 3. Залежність коефіцієнтів дифузного відбиття (а) і пропускання (б) від ступеня оксигенації крові S при $\lambda = 700$ (криві 1), 750 (2) і 775 нм (3). Для а - $L = 0.2$ см, для б - сплошні лінії $L = 0.2$ см, пунктирні 0.4 см

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Meinke M., Gersonde I., Friebel M., et al. // Appl. Spectrosc. – 2005. – V. 59. – P. 826 – 835.
2. Кассирский И. А., Алексеев Г. А.. Клиническая гематология, Москва: Медицина. 1970.
3. Левтов В. А., Регирер С. А., Шадрин Н. Х.. Реология крови, Москва: Медицина. 1982.
4. Науменко Е. К. // Журн. прикл. спектроск. – 2003. – Т. 70. – С. 375 – 380.
5. Prahl S. A.. <http://omlc.org/spectra/hemoglobin/index.html>.
6. Барун В. В., Иванов А. П. // Опт. спектроск. – 2004. – Т. 96. – С. 1019 – 1024.
7. Хайруллина А. Я. / Распространение света в дисперсной среде. Под ред. Иванова А. П. Минск: Наука и техника. 1982. С. 275 – 292.
8. Зега Э. П., Иванов А. П., Кацев И. Л. Перенос изображения в рассеивающей среде. Минск: Наука и техника. 1985. 327 с.
9. Барун В. В., Иванов А. П. // Инж.-физ. журн. – 2011. – Т. 84. – С. 22 – 31.

УДК 681.518.5

Петрук В.Г., Кватернюк С.М., Кватернюк О.Є., Вишнеvsька Я. Ю. (Україна, Вінниця)

МЕТОДИКА ОЦІНЮВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ СТИЧНИХ ВОД ЗА ДОПОМОГОЮ БІОІНДИКАЦІЇ ПО ФІТОПЛАНКТОНУ

Розвиток виробництва призводить до збільшення техногенного впливу на водні екосистеми за рахунок підвищення скиду забруднюючих речовин зі стічними водами у місцеві водні об'єкти. Навіть при наявності нового сучасного технологічного обладнання ряд хімічних речовин, що застосовуються у виробництві можуть потрапляти у стічні води, наприклад, при порушенні технологічних процесів чи виході з ладу очисного

обладнання. Тому тема оперативного контролю токсичності стічних вод є особливо актуальною для екологічних інспекцій.

Об'єктом дослідження є методи оцінювання екологічного стану водних об'єктів та контролю інтегрального рівня токсичності стічних вод. Метою роботи є підвищення швидкодії та вірогідності контролю токсичності стічних вод на основі біоіндикації по фітопланктону. Актуальність теми викликана необхідністю розроблення нових методів та засобів контролю стану водних об'єктів на основі біоіндикації по фітопланктону, оскільки для традиційних, наприклад, автоматизованої мікроскопії, характерні низькі значення швидкодії та вірогідності контролю.

Біотестування інтегрального рівня токсичності вод широко використовується у більшості країн світу. Декілька директив Європейського Союзу визначають систему заходів щодо охорони поверхневих водоймищ. Відносно якості води найбільш важливою є директива Європейського Парламенту і Ради Європи – “Рамкова директива по водній політиці”, що набула чинності в грудні 2000 року (Water Framework Directive/WFD) [1]. У додатку номер V “Рамкової Директиви по водній політиці” вказані біологічні чинники і параметри, що беруться до уваги при оцінці стану водойм.

Фітопланктон є основною біологічною ланкою водоймища, яка “несе відповідальність” за продукцію органічних речовин, за формування режиму кисню, є джерелом живлення для інших мешканців водоймища. Фітопланктон – найважливіший елемент в мікробіологічному циклі речовин. Період життя видів фітопланктону є відносно нетривалим, тому фітопланктон швидко реагує на зміни якості води. У разі змін в умовах стану довкілля зміни можна зафіксувати у видовому складі фітопланктону, в чисельності і біомасі, а також і в параметрах різноманітності видів.

1. Загальна методика проведення дослідів інкубації фітопланктону

Тести з використанням водоростей мають велике значення при оцінці первинної продукції і продукції фітопланктону для оцінки впливу стічних вод і при складанні прогнозу евтрофікування водойм.

Значення поживних речовин, що впливають на первинну продукцію фітопланктону, можна вивчати різними способами. Зростання біомаси водоростей і її зміни вивчаються за допомогою дослідів, під час яких виконують добавку поживних речовин безпосередньо у водоймі (in situ). З іншого боку, можна виконувати дослідів і тести з водоростями в лабораторних умовах, використовуючи воду з водойми – об'єкту дослідження. Проби води відбирають на досліджуваній ділянці і транспортують в лабораторію, де їх фільтрують і стерилізують. У найпростішій формі в зразок води випускається популяція водоростей в чистому вигляді або з додаванням відомих поживних речовин. Метою проведення дослідів, в ході якого відбувається додавання поживних речовин, є визначення впливу збільшення вмісту біогенних сполук на збільшення біомаси фітопланктону. Як поживні добавки, використовуються амонійний азот і фосфат фосфору. Потім резервуари з пробами інкубуються при постійній температурі і освітленні.

Scenedesmus subspicatus і *Pseudokirchneriella subcapitata* є планктонними одноклітинними зеленими водоростями прісних водоймищ. Тест з їх використанням заснований на зниженні зростання водоростей під впливом токсичної речовини. З досліджуваної проби або зразка готують серію розчинів різної концентрації з достатньою кількістю поживних речовин. У розчини додають водорості, що знаходяться на експоненціальній стадії зростання. Поряд роблять тест і з контрольною пробєю, в якій посів водорості поміщений тільки в поживний розчин. Тестовані розчини інкубуються в постійних умовах – при однаковій температурі і освітленні протягом 72 або 96 годин. Зростання водоростей в розчинах вимірюється щодня. Зниження зростання або зниження темпів зростання водоростей фіксується за результатами порівняльної проби, поміщеної в тих же умовах. На підставі співвідношення концентрація / реакція можна вичислити значення EC_{50} , тобто концентрацію, при якій зростання водоростей знижується на 50% в порівнянні з контрольною пробєю протягом 72 або 96 годин. Відзначимо ще раз, що особливо при проведенні тесту на вплив хімічних сполук розвиток водоростей в порівняльній пробі має бути на стадії експонентного зростання.

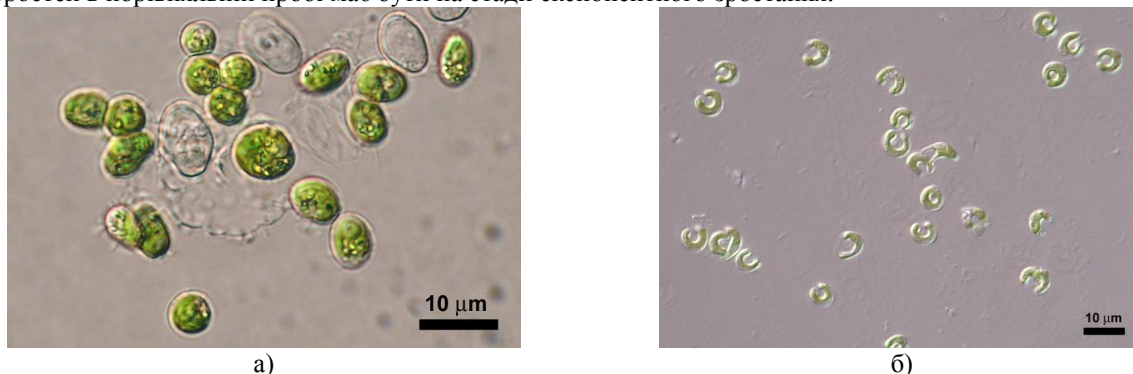


Рис. 1. Зображення частинок фітопланктону, які вибрані біоіндикаторами забруднення:
а) *Scenedesmus subspicatus*, б) *Pseudokirchneriella subcapitata*

Популяцію зеленої водорості можна підтримувати протягом довгого часу (місяці) на поживному субстраті в холодильнику без підсадки молодих особин. Для проведення тесту водорості розміщують у поживний розчин для інкубації при стандартному освітленні і температурі, де доводиться до експонентної стадії зростання. У

цьому стані препарат придатний для проведення тесту. Вивчаючи за допомогою тесту на водоростях токсичність, наприклад, стічних вод, тобто визначаючи вплив чинників, що перешкоджають зростанню водоростей, необхідно враховувати, що поживні речовини, що містяться в пробі (чи інші чинники, стимулюючи зростання водорості), здійснюють вплив в протилежному напрямі. Таким чином, результат тесту є сумою двох протилежних процесів, тому можливий вплив токсичних речовин приховується впливом поживних речовин досліджуваної проби.

Типовим методом визначення концентрації фітопланктону є спектрофотометрія на характеристичних довжинах хвиль пігментів водоростей. Основним пігментом, який присутній у частинках фітопланктону, є хлорофіл а (характеристичні довжини хвиль – 430 нм та 663 нм). Зелені водорості містять хлорофіл b (435 нм, 645 нм). Діатомові та динофітові водорості містять хлорофіл с (440 нм, 583 нм, 634 нм). Окрім хлорофілів, у хлоропластах завжди наявні каротиноїди, вміст яких оцінюється по еквіваленту бетакаротину (480 нм).

Найбільш поширеним методом розрахунку концентрації хлорофілів а, b і с (мкг/дм³) є використання стандартних формул, рекомендованих робочою групою при ЮНЕСКО [2]:

$$C_{\text{хл.а}} = (11,64 \cdot E_{663} - 2,16 \cdot E_{645} - 0,1 \cdot E_{630}) \frac{V_1}{V_2}, \quad (1)$$

$$C_{\text{хл.б}} = (-3,94 \cdot E_{663} + 20,97 \cdot E_{645} - 3,66 \cdot E_{630}) \frac{V_1}{V_2}, \quad (2)$$

$$C_{\text{хл.с}} = (-5,53 \cdot E_{663} - 14,81 \cdot E_{645} - 54,22 \cdot E_{630}) \frac{V_1}{V_2}, \quad (3)$$

де V_1 – об'єм екстракту, мл; V_2 – об'єм проби, дм³; E_{663} , E_{645} , E_{630} – оптична густина при довжинах хвиль відповідно 663, 645 і 630 нм, віднесені до робочої довжини кювети (1 см) з урахуванням поправки на мутність екстракту. Екстракцію пігментів здійснюють 90%-ним розчином ацетону.

У даній роботі використано спектрополяриметричний метод визначення концентрації частинок фітопланктону на основі підрахунку кількості частинок певного типу у кюветі за допомогою поляризаційного мікроскопу та цифрової камери [7]. Спектрополяриметричний метод контролю полягає у порівнянні масивів спектрополяриметричних зображень частинок фітопланктону отриманих *in vitro* за допомогою ПЗЗ-камери у складі розроблених засобів контролю на характеристичних довжинах хвиль пігментів, що дозволяє більш достовірно їх ідентифікувати, визначити об'ємні концентрації та кількісні співвідношення між частинками певних типів. Використання ПЗЗ-камери дозволяє отримувати цифрові спектрополяриметричні зображення частинок фітопланктону, що має ряд переваг: можливість комп'ютерної обробки зображень частинок, висока достовірність ідентифікації частинок певного типу, архівування та створення бібліотеки зображень частинок різних типів. Об'ємна концентрація частинок певної групи z_k визначається виходячи з загальної кількості частинок цієї групи N_{z_i} отриманої у серії дослідів, об'єму робочої частини кювети, що потрапляє у поле зору приладу V'_k та кількості дослідів N_d :

$$C_{z_i} = \frac{N_{z_i}}{V'_k N_d} = \frac{N_{z_i}}{l'_x l'_y l'_h N_d}, \quad (4)$$

де l'_x , l'_y , l'_h – геометричні розміри робочої частини кювети.

За рахунок цього підвищується точність ідентифікації частинок фітопланктону у порівнянні з класичними альгологічними методами, що засновані на візуальному порівнянні зображень частинок фітопланктону, отриманих за допомогою мікроскопу, зі зразковими зображеннями взятими з визначників та кадастрів, а швидкодія контролю екологічного стану водних об'єктів підвищується у 10..20 разів. Запропонований метод технічно більш складніший, ніж існуючі методи непрямої інтегральної оцінки фітопланктонних угруповань за пігментними характеристиками, оскільки дозволяє більш точно визначити співвідношення між певними видами фітопланктону.

2. Статистична обробка результатів експериментальних досліджень

Вихідними даними для розрахунків є результати експериментальних досліджень забруднюючих речовин спеціалізованою лабораторією екологічної інспекції у Вінницькій області у річці Підведений Буг у місці скидання стічних вод з кондитерської фабрики «Рошен» проведені у 2010-2011 р. Для кожної проби у лабораторії були визначені 11 параметрів, що характеризують забруднення води. Для кожної з проб води здійснено біотестування з використанням культури фітопланктону *Scenedesmus subspicatus*, яка додавалась у досліджувану пробу води та контрольну пробу по 0,5 мл [3-6]. Колби розміщувались у люміностації на 48 та 96 годин при освітленості 2000 лк. Після цього за допомогою спектрополяриметричного методу та засобу контролю, який розроблено у науково-дослідній лабораторії спектрофотометрії природних середовищ кафедри екології та екологічної безпеки ВНТУ, визначалось відношення концентрації фітопланктону у досліджуваній та контрольній пробах води.

Для того, щоб виявити кореляцію змін параметра, що характеризує забруднення стічних вод та відношення концентрацій фітопланктону у досліджуваній та контрольній пробах води через 48 (гостра токсичність) та 96 годин (хронічна токсичність) проведемо регресійний аналіз у програмі MathCAD. Оскільки функціональна

залежність між цими величинами невідома, то використаємо лінійну регресію. В результаті будуть визначені коефіцієнти лінійної регресії a та b , які характеризують чутливість вибраного методу біоіндикації по фітопланктону до конкретної забруднюючої речовини, а також коефіцієнт кореляції, який вказує, наскільки даний параметр здійснює визначальний вплив на концентрацію фітопланктону. Результати регресійного аналізу взаємозв'язку концентрації хлорид-іонів та концентрацій фітопланктону у досліджуваній та контрольній пробах води через 48 та 96 годин наведено на рис. 2.

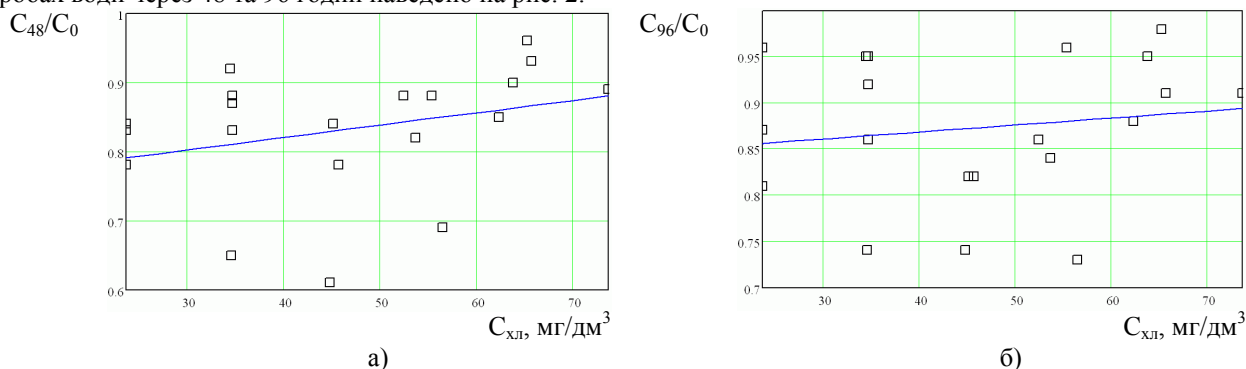


Рис. 2. Біоіндикація вмісту хлорид-іонів: а) тест 48 годин, б) тест 96 годин

Отримані значення коефіцієнту кореляції 0,303 та 0,149 вказують на наявність слабого зв'язку між концентрацією хлорид-іонів та концентрацією фітопланктону. Результати регресійного аналізу взаємозв'язку концентрації заліза та концентрацій фітопланктону у досліджуваній та контрольній пробах води через 48 та 96 годин наведено на рис. 3.

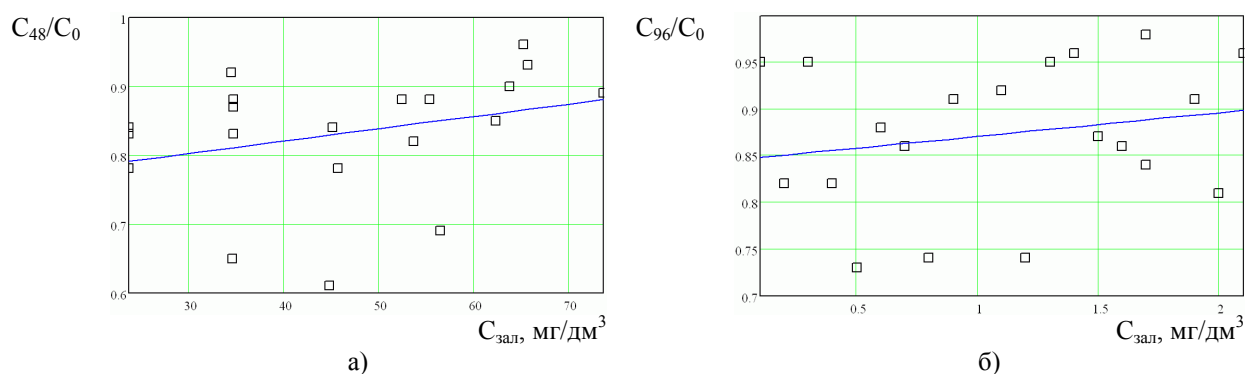


Рис. 3. Біоіндикація вмісту заліза: а) тест 48 годин, б) тест 96 годин

Отримані значення коефіцієнту кореляції 0,116 та 0,204 вказують на наявність дуже слабого зв'язку між концентрацією заліза та концентрацією фітопланктону. Також виявлено кореляційні зв'язки між деякими параметрами забруднюючих речовин (концентрацією сульфатів, амоній-іонів, нітрит-іонів, хлорид-іонів, БСК) та концентрацією фітопланктону. З концентраціями інших забруднюючих речовин кореляційні зв'язки не виявлено.

Висновки

Біоіндикація інтегрального рівня токсичності стічних вод по фітопланктону дозволяє здійснювати експрес-контроль параметрів вод. Це дозволяє суттєво скоротити кількість вимірювань для оцінки токсичності.

Виявлені кореляційні зв'язки між параметрами забруднюючих речовин та концентрацією фітопланктону досить слабкі. Тому необхідні подальші дослідження у більш широкому діапазоні зміни концентрацій забруднюючих речовин. Результати даної роботи можна використати у спеціалізованих лабораторіях екологічних інспекцій для експрес-контролю параметрів стічних вод.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official Journal of the European Communities. – L 327, 22.12.2000. – 72 p.
2. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / [О. М. Арсан, О. А. Давидов, Т. М. Дьяченко та ін.] ; під ред. В. Д. Романенко. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К. : Логос, 2006. – 408 с.
3. Балтиев Ю. С. Методические указания по интегральной оценке качества окружающей среды (экологическая разведка местности) / Ю. С. Балтиев, Г. П. Усов. – М. : Военное издательство, 2005. – 119 с.
4. Руупа М. Биологические методы исследования водоемов в Финляндии / М. Руупа, П. Хейнонен. – Helsinki: SUOMEN YMPARISTOKESKUS, 2006. – 112 с.

5. Сигналізатори токсичності природних та стічних вод біологічні. Загальні технічні вимоги та методи випробування: ДСТУ 4004–2000. – [Чинний від 2000-07-01]. – К. : Держстандарт України, 2001. – 16 с. – (Національний стандарт України).
6. Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація: Теорія, методи, практика використання / [І. Т. Олексів, Н. С. Ялинська, Л. П. Брагінський та ін.]. – Львів : Світ, 1995. – 440 с.
7. Петрук В. Г. Контроль стану водних об'єктів як полідисперсних середовищ на основі методу спектрополяриметричних зображень / В. Г. Петрук, С. М. Кватернюк, А. П. Іванов [та ін.] // Екологія та промисловість. – 2010. – №2. – С. 77–81.

УДК 681.518.5

Петрук В.Г., Кватернюк С.М., Васильківський І.В., Бондарчук О.В.

КОНТРОЛЬ ІНТЕГРАЛЬНОГО РІВНЯ ЗАБРУДНЕННЯ Р. ПІВДЕННИЙ БУГ ЗА ХАРАКТЕРИСТИКАМИ МАКРОФІТІВ

Забруднення водних об'єктів полягає у внесенні речовини або енергії, що призводить до зміни функціонування водних екосистем, а також продуктивності та чисельності їх біологічних популяцій. Основний принцип гідробіологічного тестування водних об'єктів полягає у порівнянні виживання певних організмів у чистій та забрудненій воді. У даній роботі виберемо у якості біоіндикатора макрофіти, що дозволить аналізувати екологічний стан водного об'єкту на прикладі р. Південний Буг. Вищі водяні рослини у складі трофічного ланцюга гідробіоценозу виступають як один з головних компонентів автотрофного блоку, забезпечуючи трансформацію потоку енергії та мінеральних компонентів у первісну органічну речовину. Макрофіти впливають на фізико-хімічні параметри гідроекосистеми, визначають динаміку заростання акваторії, збагачують якісний і кількісний склад гетеротрофного блоку, створюють сприятливі умови для відтворення іхтіофауни. Особливу роль вищі водяні рослини відіграють у процесі самоочищення гідроекосистеми, забезпечуючи виконання низки функцій, завдяки яким здійснюється вилучення значної кількості біогенних елементів та акумуляція забруднюючих речовин, що сприяє формуванню якісних показників води. Зарості вищої водної рослинності можуть служити перешкодою потрапляння забруднень у водні екосистеми з поверхневим стоком.

1. Загальна характеристика макрофітів, як біоіндикаторів екологічного стану водних об'єктів

Водними макрофітами називають всі макроскопічні рослинні організми, встановлення родової (видової) приналежності яких не потребує застосування оптичних засобів з великим збільшенням. В прісноводних водоймах це вищі водяні рослини, а також харові і зелені нитчасті водорості. До складу водяних макрофітів входять справжньо-водяні, повітряно-водяні та амфібійні види. Перші для проходження життєвого циклу потребують постійного контакту з водним середовищем, більша частина вегетативного тіла цих рослин занурена у воду, на її поверхні чи над нею можуть бути розташовані листя. У повітряно-водяних рослин у воді знаходиться лише нижня частина пагонів, а верхня – у повітрі. Представники цієї групи займають прибережні мілини до глибини 1-2 м та зустрічаються вище урізу води. Амфібійними є види, які в залежності від умов проходять свій життєвий цикл як за типом справжньо-водяних, так і суходільних рослин. В практиці гідроботанічних досліджень серед водяних рослин за ступенем контактування з водним і повітряним середовищами та донними відкладами, зазвичай, розрізняють такі екологічні групи:

- повітряно-водяні - рослини з пагонами, частина яких перебуває у водному середовищі, а частина піднімається над поверхнею води;
- з плаваючим листям – рослини, більша частина вегетативних пагонів і листя яких плаває;
- занурені – рослини, основна частина яких знаходиться у водній товщі, а генеративні пагони можуть здійматися над водою чи плавати на її поверхні.

Макрофіти є більш консервативними показниками стану водних екосистем, ніж угруповання фіто-, зоопланктону і бентосу, які утворені дрібними, рухливими організмами. Однак це не заперечує можливості використання макрофітів для оцінки стану водних екосистем різного типу. У Директиві 2000/60/ЕС [1] макрофіти розглядаються як важливий «елемент якості для класифікації екологічного статусу» природних та «екологічного потенціалу» сильно змінених та штучних водних об'єктів. При цьому стосовно річок і озер як «елемент біологічної якості» рекомендується використовувати вищі водяні рослини.

Видовий склад, характер поширення, структура рослинних угруповань, показники біомаси і площі зарослої акваторії є маркерами, які візуально виявляють екологічний стан водних об'єктів [2]. Спостереження за динамікою якісних і кількісних показників розвитку макрофітів дозволяють визначити напрямок сукцесії водних екосистем. Матеріали про зміни рослинності можуть бути отримані в результаті спостережень за акваторією всього водного об'єкта або його частини. Досліди проводять на стаціонарних майданчиках з фіксованими межами. Порівняння проводять за всіма параметрами, що характеризують угруповання макрофітів. При цьому зміни можуть носити сезонний характер, що викликається кліматичними умовами, особливостями біологічних ритмів рослин, або ж антропогенним тиском на водойму. Сезонні зміни та флуктуації є хаотичними, але зворотніми. Вони розглядаються як тимчасова зміна структури угруповань і