

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет Нафти, газу та екології

Кафедра екології, води та природоохоронних технологій.

Ступінь вищої освіти Магістр

Спеціальність 101 «Екологія»

Освітня програма Екологічний контроль і аудит



ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА
ДО КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

на тему **Екологічний контроль стану атмосферного повітря за
використання біологічних методів**

Здобувача Каранфілова К.І.

2 курсу ЕК-465 групи

Керівник доцент Гаркович О.Л.

Кваліфікаційна робота допускається до захисту

Рішення кафедри від _____ 2023 р., протокол № _____

Завідувач кафедри ЕВтаПТ _____ Олексій ГАРКОВИЧ

Одеса - 2023 рік

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет Нафти, газу та екології

Кафедра екології, води та природоохоронних технологій.

Ступінь вищої освіти Магістр

Спеціальність 101 «Екологія»

Освітня програма Екологічний контроль і аудит

ЗАТВЕРДЖУЮ

завідувач кафедри

к-т біол. наук, доц.

_____ **О.Л. Гаркович**

“ ____ ” _____ 2023 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Каранфілова Кирила Ігоровича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Екологічний контроль стану атмосферного повітря за використання біологічних методів»

Затверджена наказом ОНТУ від “27” 01 2023 року, наказ № 21-03

2. Термін здачі здобувачем закінченої роботи 01.12.23.

3. Вихідні дані до роботи методи екологічного контролю рівня забруднення повітря; матеріали переддипломної практики: можливість застосування біоломінесцентного методу для оцінювання якості атмосферного повітря

4. Перелік питань, які потрібно розробити здійснити порівняльний аналіз існуючим методам екологічного контролю рівня забруднення повітря, обґрунтувати можливість застосування біоломінесцентного методу для оцінювання якості атмосферного повітря, визначити умови проведення біоломінесцентного аналізу, що забезпечують найвищу чутливість до забруднювачів повітря, експериментально перевірити можливість використання біоломінесцентних платформних технологій

5. Перелік графічного матеріалу (з зазначенням обов'язкових креслень) таблиці та схеми, що відображають хід виконання випускної кваліфікаційної роботи

6. Консультанти по роботі, із зазначенням розділів роботи, що стосуються їх

| Розділ | Консультант | Підпис, дата | |
|--|----------------------------|----------------|------------------|
| | | завдання видав | завдання прийняв |
| 1. Методи контролю якості атмосферного повітря | Гаркович О.Л., к.б.н, доц. | 02.08 | 29.08 |
| 2. Матеріали та методи дослідження | Гаркович О.Л., к.б.н, доц. | 29.08 | 19.09 |
| 3. Теоретичне обґрунтування та експериментальна перевірка використання біолоюмінесцентних платформних технологій для оцінки рівня забруднення атмосферного повітря | Гаркович О.Л., к.б.н, доц. | 19.09 | 17.10 |
| 4. Експериментальні дослідження | Гаркович О.Л., к.б.н, доц. | 17.10 | 07.11 |
| 5. Охорона праці та ЦЗ | Гаркович О.Л., к.б.н, доц. | 07.11 | 30.11 |

7. Дата видачі завдання 02.08.2023 р.

Керівник _____ Олексій ГАРКОВИЧ

Завдання прийняв до виконання _____ Кирило КАРАНФІЛОВ

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| № з/п | Назва етапів випускного проекту (роботи) | Строк виконання етапів роботи | Примітка |
|-------|---|-------------------------------|----------|
| 1 | Антропогенне забруднення атмосферного повітря та методи оцінки рівня забруднення атмосферного повітря | 29.08.23 | |
| 2 | Біологічні методи екологічного контролю | 29.08.23 | |
| 3 | Біолоюмінесцентний метод оцінювання якості повітря | 29.08.23 | |
| 4 | Матеріали та методи дослідження | 19.09.23 | |
| 5 | Теоретичне обґрунтування використання біолоюмінесцентних платформних технологій для оцінки рівня забруднення атмосферного повітря | 17.10.23 | |
| 6 | Експериментальна перевірка використання біолоюмінесцентних платформних технологій для оцінки рівня забруднення атмосферного повітря | 07.11.23 | |
| 7 | Охорона праці та ЦЗ | 30.11.23 | |
| 8 | Оформлення результатів виконаної роботи | 01.12.23 | |

Здобувач-дипломник _____ Кирило КАРАНФІЛОВ

Керівник роботи _____ Олексій ГАРКОВИЧ

Несу відповідальність за ідентичність електронного та друкованого варіантів кваліфікаційної роботи, даю згоду на обробку персональних даних та не заперечую проти розміщення кваліфікаційної роботи на офіційних web-ресурсах ОНТУ.

Підтверджую, що в кваліфікаційній роботі відсутні порушення норм академічної доброчесності.

Здобувач-дипломник Кирило КАРАНФІЛОВ _____

АНОТАЦІЯ

Пояснювальна записка до випускної кваліфікаційної роботи: сторінок – 73, рис. – 16, табл. – 2, формули – 17, література – 50.

Перелік ключових слів: екологічний контроль, атмосферне повітря, біологічні методи, біолоюмінесцентні платформні технології.

Тема: Екологічний контроль стану атмосферного повітря за використання біологічних методів.

Об'єкт дослідження – атмосферне повітря.

Предмет дослідження – біолоюмінесцентні платформні технології.

Мета досліджень Мета даної роботи полягала в оцінці можливості використання ферментативної біолоюмінесцентної системи бактерій, для комплексного контролю за якістю атмосферного повітря.

Кваліфікаційна робота магістра складається з таких розділів:

Розділ 1. Наведена загальна характеристика методів контролю якості атмосферного повітря. Розкрито антропогенне забруднення атмосферного повітря та методи оцінки рівня забруднення атмосферного повітря. Подана характеристика існуючих біологічних методів екологічного контролю з акцентом на біолоюмінесцентний метод оцінювання якості повітря.

Розділ 2. Матеріали та методи дослідження. Визначені об'єкти, охарактеризовані методи дослідження та розроблена програма проведення дослідження.

Розділ 3. Теоретично обґрунтовано можливість застосування біолоюмінесцентного методу для оцінювання якості атмосферного повітря; експериментально встановлено найкращий спосіб пробовідбору атмосферного повітря для проведення біолоюмінесцентного аналізу; визначено умови проведення біолоюмінесцентного аналізу, що забезпечують найвищу чутливість до забруднювачів повітря; експериментально перевірено можливість використання біолоюмінесцентних платформних технологій для оцінки рівня забруднення повітря.

Розділ 4. Наведено правила безпеки та обов'язкові вимоги для вдалої роботи в лабораторії.

Розділ 5. У розділі в рамках інформації щодо надзвичайних ситуацій, було розраховано характер руйнування лабораторії, у разі вибуху балону з киснем.

ЗМІСТ

| | Сторінки |
|---|----------|
| ВСТУП | 3 |
| РОЗДІЛ 1. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ | 5 |
| 1.1. Антропогенне забруднення атмосферного повітря та методи оцінки рівня забруднення атмосферного повітря..... | 5 |
| 1.2. Біологічні методи екологічного контролю..... | 11 |
| 1.3. Біолюмінесцентний метод оцінювання якості повітря..... | 29 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ | 37 |
| 2.1. Пробовідбір..... | 37 |
| 2.2. Реактиви та матеріали..... | 41 |
| 2.3. Методика визначення активності біферментної системи НАДН: ФМН-оксидоредуктаза-люцифераза..... | 42 |
| РОЗДІЛ 3. ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ПЕРЕВІРКА ВИКОРИСТАННЯ БІОЛЮМІНЕСЦЕНТНИХ ПЛАТФОРМНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ДЛЯ ОЦІНКИ РІВНЯ ЗАБРУДНЕННЯ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ | 43 |
| 3.1. Вплив проб повітря, відібраних за допомогою сорбційних трубок, на активність біолюмінесцентної біферментної системи бактерій..... | 44 |
| 3.2. Вплив проб повітря, відібраних за допомогою медичних шприців, на активність біферментної системи біолюмінесцентних бактерій..... | 49 |
| 3.3. Вплив проб повітря, відібраних за допомогою аспіратора та судин Ріхтера на активність біферментної системи бактерій..... | 51 |
| РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ | 55 |
| 4.1. Аналіз потенційно небезпечних та шкідливих факторів..... | 55 |
| 4.2. Вимоги до охорони праці при організації робочого місця працівника..... | 56 |
| 4.3. Забезпечення нормативних значень показників мікроклімату і чистоти повітря..... | 57 |
| 4.4. Освітлення робочого місця, заходи для забезпечення нормованих показників освітлення..... | 58 |
| 4.5. Заходи і засоби для забезпечення нормативних значень шуму та вібрації..... | 59 |
| 4.6. Забезпечення необхідності санітарного стану лабораторії..... | 59 |
| 4.7. Заходи і засоби для захисту працюючих від ураження електричним струмом..... | 60 |
| 4.8. Забезпечення пожежовибухової безпеки..... | 61 |
| РОЗДІЛ 5. ЦИВІЛЬНИЙ ЗАХИСТ | 62 |
| ВИСНОВКИ | 64 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | 69 |

ВСТУП

Актуальність теми. У зв'язку зі швидкими темпами розвитку промисловості поблизу міст, гостро постає питання вирішення проблем пов'язаних з викидами в атмосферу повітря. Масштаб негативного впливу на атмосферне повітря незмінно зростає, збільшуються обсяги викидів забруднюючих речовин, зростають території їх поширення, тим самим збільшується негативний вплив не тільки на здоров'я населення, а й на всю екологічну систему планети.

На сьогодні сумарний рівень забруднення повітря у великих та середніх містах України у 2–4 рази перевищує гранично допустимий рівень і є небезпечним для здоров'я населення; спостерігаються тенденції до зростання рівня забруднення атмосферного повітря міст. Головними екологічно-небезпечними господарськими об'єктами та джерелами антропогенного забруднення є об'єкти енергетики, видобувної й важкої промисловості, транспорт і сільське господарство. Список екологічно найбільш неблагополучних міст країни у 2021 р. нараховував понад 80 поселень, і в нього входили майже 80% загальної кількості великих міст.

Причинами надмірних викидів забруднюючих речовин в атмосферне повітря є: робота підприємств в умовах зношеності основних фондів, недосконаlostі технологічних процесів базових галузей промисловості, недостатня забезпеченість останніх очисними спорудами для уловлювання та утилізації забруднюючих речовин, введення в дію нових підприємств.

Залишається гострою проблема забруднення повітря пересувними джерелами, і особливо, автомобільним транспортом. Надходження шкідливих речовин від автотранспорту домінують над викидами від стаціонарних джерел, і становить 81 % від загальної кількості забруднюючих речовин, що надходять в атмосферне повітря.

Тому дослідження можливості проведення комплексного методу оцінки рівня забруднення атмосферного повітря актуальне. У цій роботі пропонується

новий методологічний підхід, для комплексного контролю за якістю атмосферного повітря, заснований на використанні ферментативних біолюмінесцентних систем.

Мета та завдання дослідження. Мета даної роботи полягала в оцінці можливості використання ферментативної біолюмінесцентної системи бактерій, для комплексного контролю за якістю атмосферного повітря.

Для досягнення зазначеної мети було поставлено такі завдання:

- схарактеризувати основні чинники антропогенного забруднення атмосферного повітря та здійснити порівняльний аналіз існуючим методам екологічного контролю рівня забруднення атмосферного повітря;

- обґрунтувати можливість застосування біолюмінесцентного методу для оцінювання якості атмосферного повітря;

- визначити спосіб пробовідбору атмосферного повітря для проведення біолюмінесцентного аналізу;

- визначити умови проведення біолюмінесцентного аналізу, що забезпечують найвищу чутливість до забруднювачів повітря;

- експериментально перевірити можливість використання біолюмінесцентних платформних технологій для оцінки рівня забруднення повітря.

Об'єкт дослідження – атмосферне повітря.

Предмет дослідження – біолюмінесцентні платформні технології.

РОЗДІЛ 1

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ

1.1. Антропогенне забруднення атмосферного повітря та методи оцінки рівня забруднення атмосферного повітря

Повітря нині є провідним об'єктом навколишнього середовища, з яким пов'язана найбільша частина всіх негативних впливів навколишнього середовища на здоров'я людини [1, 2, 3].

Згідно з експертами зі Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) близько 72% випадків передчасної смерті пов'язані із забрудненням атмосферного повітря. Близько 70% – це ішемічні хвороби серця та інсульти, 14% – хронічні хвороби легень та гострі інфекції нижніх дихальних шляхів та інші респіраторні захворювання, 14% – онкологія легень [4].

Забруднення біосфери відбувається різними елементами – хімічними речовинами, твердими частинками і біологічними матеріалами, здатними заподіяти шкоду людині та іншим живим організмам.

Науково підтверджено кореляційний зв'язок між станом забруднення атмосферного повітря та захворюваністю. ВООЗ констатує, що забруднення повітря призводить до збільшення захворюваності та смертності в світі. За даними цієї ж організації, забруднення атмосферного повітря є пріоритетним чинником ризику для здоров'я населення, при цьому понад 80% захворювань тією чи іншою мірою залежать від якості повітря. Щороку в світі від забруднення повітря передчасно помирають мільйони людей. Ще кілька мільярдів щодня змушені дихати насиченим пилом та отруйними сполуками повітрям. Нині загалом близько 90 відсотків дітей проживають у містах, де повітря забруднене різними шкідливими речовинами. Експерти ВООЗ зазначають, що особливо серйозні проблеми внаслідок забруднення повітря спостерігаються в переважній більшості міст небагатих країн.

Таке явище, як незадовільна якість міського повітря не оминуло й Європейський континент. Але найбільше від цього потерпають саме країни

Центральної та Східної Європи, серед яких і Україна. Наприклад, фахівці Центральної геофізичної обсерваторії імені Бориса Срезневського підрахували, що в першому півріччі 2020 року в 13-ти українських містах спостерігався високий рівень забруднення повітря. Лідерами виявилися Маріуполь, Одеса, Луцьк. Ще дев'ять міст мали високий вміст шкідливих речовин у повітрі. А порівняно з минулим роком концентрація небезпечних для здоров'я речовин у повітрі українських міст навіть зросла [4].

Виявлено, що поряд зі збільшенням концентрації шкідливих речовин в атмосферному повітрі спостерігалось зростання рівнів захворюваності населення, у тому числі хворобами органів дихання, систем кровообігу, хворобами алергічного походження. Виявлено прямий кореляційний зв'язок між ступенем забруднення повітря пилом і загальним рівнем захворюваності дорослого населення на бронхіальну астму, системи кровообігу, ішемічні хвороби серця, на алергічний риніт.

В Україні негативного впливу атмосферних забруднень зазнає близько 17 млн. осіб, або 34% всього населення. Вади розвитку дітей у містах із забрудненням навколишнього середовища трапляються в 3 – 4 рази частіше, ніж у відносно чистих, хвороби органів дихання реєструються удвічі частіше, загальний рівень захворюваності населення на 25 – 40% вищий, вищий також рівень алергічних, онкологічних, серцево-судинних, генетичних та інших захворювань.

Забруднення повітря відбувається за рахунок природних та антропогенних джерел. До природних джерел відносяться пилові бурі, виверження вулканів, пожежі в лісах та степах, руйнування гір, космічний пил та інше. Разом з тим, значно більше забруднення відбувається за рахунок діяльності людини (антропогенне). Тим більше, що до так, званих природних джерел також причетна людина. Вирубання лісів веде до руйнування гір, розорювання родючих земель до формування пустель і пилових бурь, спалювання відходів діяльності до масштабних пожеж, ядерні випробування до провокування виверження вулканів, польоти в космос - космічне

забруднення та т.і. [1, 2, 3].

Ступінь забруднення атмосфери залежить від кількості викидів шкідливих речовин та їх хімічного складу, від метеорологічних умов, що визначають перенесення, розсіювання речовин, що викидаються, і від висоти, на якій здійснюється викиди.

Глобальні та регіональні системи спостережень і контролю над забрудненням атмосферного повітря в розвинених країнах організовані відповідно до рекомендацій ООН. Ці рекомендації були розроблені в 70-і роки ХХ століття. Перелік забруднюючих речовин, за якими слід проводити контроль, кожна країна визначає самостійно.

В Україні спостереження за забрудненням атмосфери здійснюються з початку 60-х років 20-го сторіччя.

Організація моніторингу передбачає контроль за поширенням шкідливих домішок як у самій атмосфері, так і в системі: «атмосфера – гідросфера – літосфера – біосфера» [5, 6, 7, 8].

Для цієї діяльності необхідні [5, 6]:

1. Інформація про наявні та перспективні джерела забруднення атмосфери (з урахуванням економічного розвитку регіону).
2. Характеристика забруднюючих речовин (токсичність, фізико-хімічні властивості).
3. Гідрометеорологічні дані.
4. Результати попередніх досліджень (ретроспективний аналіз).
5. Дані про забруднення атмосфери в інших районах, регіонах і країнах.

Моніторинг стану атмосферного повітря та вмістом ЗР, у тому числі радіонуклідів, здійснюють такі суб'єкти державної системи моніторингу довкілля [5, 6, 7, 8, 9]:

Український гідрометеорологічний центр – колишня Державна гідрометеорологічна служба України) – державна установа в складі Державної служби України з надзвичайних ситуацій, що провадить метеорологічні спостереження на території України. Діяльність УкрГМЦ спрямовується,

координується та контролюється Департаментом з питань цивільного захисту та ДСНС України. Міністерство внутрішніх справ України координує Державну службу України з надзвичайних ситуацій.

Державна санітарно-епідеміологічна служба – координує МОЗ. Систему спостережень представляє Український гідрометеорологічний центр, який веде спостереження за якістю атмосферного повітря в населених пунктах і територіях, розміщених за зоною впливу джерел забруднення, надає дані про метеорологічні умови і концентрацію шкідливих речовин. Передача центру головних функцій в організації мережі станцій спостережень за забрудненням атмосфери була зумовлена тим, що мережа моніторингових постів і гідрометеорологічна мережа формуються за схожими принципами. Окрім того, характеристики забруднення атмосфери визначаються, як правило, одночасно з необхідними для їх інтерпретації метеорологічними показниками. МОЗ ведуть спостереження за рівнем захворюваності населення в різних населених пунктах. Науковий комітет Національної академії наук України організовує авіаційно-космічні спостереження за станом озонового шару і глобальним забрудненням атмосфери.

Система контролю здійснює контроль над джерелами забруднення та викидами шкідливих речовин в атмосферу. Для цього Мінекоресурсів (Державна екологічна інспекція України) стежить за дотриманням норм ГДВ підприємств, контролює реалізацію заходів з охорони повітря та дотримання вимог з проектування, розміщення, будівництва та введення в експлуатацію нових підприємств. Держекоінспекція України здійснює державний нагляд (контроль) за додержанням центральними органами виконавчої влади та їх територіальними органами, місцевими органами виконавчої влади, органами місцевого самоврядування в частині здійснення делегованих їм повноважень органів виконавчої влади, підприємствами, установами та організаціями незалежно від форми власності і господарювання, громадянами України, іноземцями та особами без громадянства, а також юридичними особами-нерезидентами вимог законодавства про охорону атмосферного повітря.

Підвищення ефективності контролю за станом атмосферного повітря може бути досягнуто підвищенням продуктивності, оперативності та регулярності вимірів, збільшенням масштабності охоплення одночасним контролем; автоматизацією та оптимізацією технічних засобів контролю та самого процесу.

Засоби екологічного спостереження та контролю поділяються на контактні, неконтактні (дистанційні), біологічні, а контрольовані показники – на функціональні (продуктивність, оцінка кругообігу речовин та ін.) та структурні (абсолютні або відносні значення фізичних, хімічних чи біологічних параметрів – концентрація забруднюючої речовини, коефіцієнт сумарного забруднення та ін.) [5, 6].

Найбільш інформативними є структурні контрольні показники, тому що вони дають безпосередню інформацію про об'єкт навколишнього середовища, яка була забруднена, а також всю необхідну інформацію про забруднювачі (концентрація забруднюючої речовини, різні коефіцієнти забруднення, рівень і ступінь забруднення і т.д.).

Контактні методи екологічного контролю. До цього виду відносять усі види хімічного, фізико-хімічного та фізичного методів аналізу. До хімічних методів відносять: гравіметричний та титриметричний; до фізичних: магнітну спектроскопію, мас-спектрометрію, рентген-спектральний аналіз; до фізико-хімічних: спектральні, електрохімічні, хроматографічні [5, 6, 9].

Найчастіше використовуються спектральний, хроматографічний, електрохімічний методи. Усі методи включають пробовідбір, проведення аналізу, збір, обробку та інтерпретацію результатів.

Дистанційні методи екологічного контролю. Ці методи є допоміжними і використовуються разом із контактними методами, вони дозволяють отримати додаткову інформацію, яка дозволить отримати повноцінну оцінку якості довкілля.

Дистанційні методи засновані на використанні двох властивостей зондувальних (електромагнітних, гравітаційних, акустичних) полів:

взаємодіяти з об'єктом, що вивчається, і переносити отриману інформацію на датчик. Дистанційні методи екологічного контролю поділяються на активні та пасивні. Активні методи засновані на використанні відбитих променів від об'єктів дослідження, спрямованого на ці об'єкти спеціальними випромінювачами (радіаційний передавач, лазер), а при пасивних методах йде реєстрація відбитих, перевипромінюваних або зондувальних полів, що пройшли, створеним самим об'єктом вивчення [5, 6].

Також методи поділяються на аерокосмічні та геофізичні. Методами аерокосмічного дослідження є оптична фотовідеозйомка, радіотеплова, радарна, інфрачервона, радіолокаційна та інші види зйомок. Геофізичні методи застосовуються для вивчення складу, будови та стану гірських порід, у яких у тих чи інших умовах можуть розвиватися небезпечні геологічні процеси. Цей метод також включає картографування, топографію місцевості, вивчення складів ґрунту та їх походження. Метод найбільше підходить для вивчення забруднення ґрунту [5, 6, 9].

В екологічному контролі широко застосовується інформація, отримана із супутників. Вільний прийом інформації із супутників на Землі здійснюється Всесвітньою метеорологічною організацією згідно з концепцією «Відкритого неба». На наземних станціях проводиться прийом, демодуляція, первинна переробка та підготовка супутникової інформації для їх подальшого введення на персональний комп'ютер.

Біологічні методи екологічного контролю. Ефективними методами екологічного контролю на сьогоднішній день є біологічні методи – біоіндикація та біотестування (біотоксикологія). Біологічні методи екологічного контролю дозволяють діагностувати негативні зміни в природному середовищі за низьких концентрацій забруднюючих речовин [10, 11].

Нині час при оцінці стану навколишнього середовища провідна роль відводиться фізичним та хімічним методам екологічного контролю. Їхня сутність зводиться до порівняння забруднення окремих компонентів природних комплексів з ГДК. Проте існуючі системи нормативів не

забезпечують екологічну безпеку екосистем – стан захищеності природного середовища та життєво важливих інтересів людини від можливого негативного впливу господарської та іншої діяльності, надзвичайних ситуацій природного та техногенного характеру, їх наслідків - і частіше мають антропоцентричний характер.

До основних недоліків традиційних методів оцінки слід віднести:

- прямі інструментальні методи дослідження часто дуже трудомісткі, дорогі та недостатньо забезпечені відповідними приладами, які могли б давати можливість отримувати експрес-дані безпосередньо в польових умовах;

- сучасні дослідження не дають можливості швидко охопити досить великі території та, у кращому разі, обмежуються окремими моніторинговими майданчиками;

- не завжди дають можливість отримати єдиний тимчасовий зріз або порівнянні часові дані;

- багато важливих екологічних показників не мають кількісної оцінки, а виражаються виключно у якісних (номінальних) чи рангових шкалах, відповідно, не визначаються інструментальними методами.

Окрім того, виділяють ще неможливість обліку в практичній діяльності синергічного та антагоністичного ефектів поллютантів; неможливість розв'язувати проблеми оцінки впливу на токсичність чи інші лімітуючі властивості поллютантів різноманітних природних факторів; неможливість отримання інформації про вторинні ефекти дії поллютантів, викликаних їх накопиченням та трансформацією в різних ланках екосистем.

1.2. Біологічні методи екологічного контролю

Ефективними методами екологічного контролю на сьогоднішній день є біологічні методи – біоіндикація та біотестування (біотоксикологія). Біологічні методи екологічного контролю дозволяють діагностувати негативні зміни в природному середовищі за низьких концентрацій забруднюючих речовин [10, 11].

Цілком очевидно, що оцінка екологічної обстановки на території в ході формування ефективної системи державного екологічного контролю неможлива без використання методів біодіагностики якості атмосферного повітря.

Оцінювати якість навколишнього середовища, ступінь його сприятливості для людства необхідно, перш за все, з метою:

- визначення стану природних ресурсів;
- розроблення стратегії раціонального використання регіону;
- визначення гранично допустимих навантажень будь-якого регіону;
- вирішення долі районів інтенсивного промислового та сільськогосподарського використання, забруднених територій тощо;
- вирішення питання про будівництво, пуск або зупинки роботи певного підприємства;
- оцінки ефективності природоохоронних заходів, запровадження очисних споруд, модернізації виробництва тощо;
- запровадження нових хімікатів та обладнання;
- створення рекреаційних та заповідних територій.

Кожне з цих питань не може бути об'єктивно вирішене лише на рівні розгляду формальних показників (ГДК), а вимагає проведення спеціальної різнобічної оцінки якості довкілля, тобто, потрібна інтегральна характеристика стану – біологічна оцінка.

Відомо, що усі живі організми висувають до умов існування певні вимоги. Вони були вироблені в процесі розвитку виду і визначають його існування в умовах відповідної екологічної ніші.

На живий організм завжди діє сукупність екологічних чинників. Широко розповсюджений поділ чинників на абіотичні (фізико-географічні чинники екотопа – кліматичні, едафічні, орографічні, хімічні і т. д.) і біотичні (фітогенні, зоогенні, антропогенні і т.д.).

Усі біологічні системи (організми, популяції або біоценози) в ході свого розвитку пристосувалися до комплексу умов мешкання.

Кожен організм має генетично закріплений фізіологічний поріг толерантності (витривалості) до певного чинника, в межах якого цей чинник є для нього стерпним. Реакція організму, його пригнічення або процвітання залежить від ступеня впливу чинника, тобто кожен вид пристосований до певної інтенсивності кожного екологічного чинника і до певного діапазону його мінливості. Згідно із «законом мінімуму» Ю. Лібіха і «закону толерантності» Шелфорда, існування виду визначається лімітуючими чинниками в області песимуму в максимальних і мінімальних значеннях. Поблизу точок максимуму і мінімуму лежать сублетальні величини екологічного чинника, а за межами зони толерантності – летальні. Оптимальне значення чинника визначити важко, тому прийнято вести мову про зону оптимуму, коли спостерігається найвища продуктивність виду. Умови середовища, що виходять за межі оптимальної зони, називаються екстремальними і складають зону пригнічення. За межами зони толерантності лежать летальні значення, що викликають загибель організму [10, 11].

Методи біоіндикації засновані на спостереженнях окремих організмів, популяції або угруповань організмів у природному середовищі проживання з метою визначення за їх реакціями (змінami) якості навколишнього середовища. У сільському господарстві широко застосовується метод біоіндикації для діагностики харчування сільськогосподарських культур. Даний метод візуальної біоіндикації заснований на вивченні зовнішніх ознак фітобіоценозів, які відображають якісні зміни довкілля.

Як ознаки візуальної біоіндикації використовується зовнішній вигляд рослин. Таких ознак, пов'язаних із порушенням харчування рослин, безліч, зокрема: уповільнення росту стебел; гілок та коріння; пожовтіння; побуріння; загинання листя; «крайові опіки»; освіта гнилі; здеревіння стебел та ін. Для цілей біоіндикації якості довкілля можуть застосовуватися популяційні та екосистемні критерії, які характеризуються показниками: чисельності та біомаси окремих видів; співвідношенням у угрупованнях різних видів, їх розподіл за великою кількістю і т.п.

Для отримання більш достовірних, довгострокових прогнозів поряд з видами-індикаторами відстежуються зміни, що відбуваються в популяціях стійких видів, здатних витримувати значні впливи, що обурюють (впливи екологічно несприятливих факторів) протягом тривалого часу.

Під впливом забруднюючих речовин, у організмі відбуваються перебудова структури та функції клітин. Результати гістологічних досліджень таких змін можуть свідчити про якість довкілля. Злоякісне зростання клітин, дегенеративні зміни або поява некротичних вогнищ характеризують високий ступінь токсичності довкілля.

Патолого-анатомічні та гістологічні методи біоіндикації особливу увагу приділяють вивченню репродуктивної системи, будь-які зміни якої безпосередньо з життєво важливими параметрами популяції. Репродуктивна система дуже чутлива до стресових впливів, і будь-яке порушення можна як сигнал про наявність несприятливих змін у навколишньому середовищі.

Ембріональні методи діагностики базуються на тій обставині, що найбільш уразливими до впливу зовнішніх збурень є ранні стадії розвитку багатоклітинних організмів. На стадіях дроблення та формування зародкових органів і тканин навіть незначні впливи, як правило, призводять до видимих каліцтв пізніших стадій або навіть загибелі зародків. Як біоіндикатори зазвичай використовуються види, що швидко розвиваються і дають численне потомство організми (риби, молюски, земноводні, комахи). Дані організми можуть бути використані як тест-об'єкти для біотестування навколишнього середовища.

Більш тонкими та точними методами біодіагностики є імунологічні та генетичні методи.

Імунологічні – засновані на вимірах показників імунної системи під впливом зовнішніх факторів, що обурюють. Внаслідок будь-якого роду негативного впливу на імунну систему живих організмів насамперед змінюється функціональний стан імунокомпетентних клітин – спленоцитів та лімфоцитів. При введенні в клітини організму спеціальних речовин – стандартних мутагенів (ліпополісахаридів та ін.) – залежно від виду впливу

інгібування реакції може свідчити про порушення імунологічного статусу організму.

Генетичні методи дозволяють аналізувати генетичні зміни, що виникають унаслідок несприятливих зовнішніх впливів. Поява таких змін характеризує мутагенну активність середовища, а можливість їх збереження у клітинних популяціях відбиває ефективність імунної потенції організму.

У нормальних умовах більшість генетичних аномалій видаляється з популяцій у вигляді імунної системи організму. Наявність таких аномалій можна використовувати як індикатор стресу, що веде до продукції аномальних клітин та зниження здатності імунної системи організму їх знищувати.

Така різноманітність методів біоіндикації говорить про їхню недосконалість. Розробка єдиної системи показників токсичного забруднення довкілля нині зустрічає серйозні труднощі. Поступові зміни видового складу формуються в результаті тривалого отруєння і стають явними у разі змін, що вже можуть бути невідворотними. Таким чином, видовий склад не дає оцінки на момент дослідження. У цьому плані методи біоіндикації забруднення довкілля інерційні. У холодну пору року системи біологічної індикації малоефективні [10, 11].

Проте відмінна простота методів оцінки екологічної обстановки методами біоіндикації, відсутність потреби у спеціальному інструментальному забезпеченні є безперечним достоїнством.

Вміння об'єднати у комплексну форму біоіндикацію, біотестування та хіміко-аналітичні методи діагностики екологічної обстановки дозволяє мінімізувати витрати на дослідження. Саме комплексне використання методів забезпечує перспективу біоіндикації.

Переваги, які мають живі індикатори [11 - 17]:

- в умовах антропогенних хронічних навантажень можуть реагувати навіть на слабкий вплив внаслідок кумулятивного ефекту; реакції проявляються при нагромадженні деяких критичних значень сумарних дозових навантажень;

- підсумовують вплив усіх без винятку біологічно важливих впливів та відображають стан навколишнього середовища в цілому, включаючи його забруднення та інші антропогенні зміни;
- виключають необхідність реєстрації хімічних та фізичних параметрів, що характеризують стан довкілля;
- фіксують швидкість змін, що відбуваються;
- розкривають тенденції розвитку природного довкілля;
- вказують шляхи та місця скупчень в екологічних системах різноманітних забруднень і отрут, можливі шляхи їх потрапляння в їжу людини;
- дозволяють судити про рівень шкідливості будь-яких синтезованих людиною речовин для живої природи і для неї самої, причому дають можливість контролювати їхню дію.

Прямі (інтегральні) методи оцінки екологічної обстановки також можна розділити на дві групи – біоіндикації та біотестування (останні називають також токсикологічними методами).

Біоіндикація в залежності від рівня досліджуваних екосистем поділяється на аутбіоіндикацію та синбіоіндикацію (рис. 1) [11, 12].

| Біоіндикація | Оцінка виконується за: |
|-----------------|----------------------------------|
| Аутбіоіндикація | Окремими ознаками чи організмами |
| Синбіоіндикація | Спільнотами чи комплексом видів |

Рис. 1 – Види біоіндикації

Об'єктом дослідження перших є організми чи спільноти організмів-біоіндикаторів, що спостерігаються в природних умовах проживання.

Біоіндикаторами називаються рослинні та тваринні організми, наявність, кількість і стан яких є показниками зміни якості середовища їх проживання. Глибина біоіндикації може бути різною від простої візуальної діагностики рослин до вивчення імунних та генетичних змін в організмі індикаторів.

На рисунку 2 наведено класифікацію типів біоіндикації у залежності від використовуваних систематичних груп організмів (рис. 2) [12, 13].

| Біоіндикація | Використання як індикатора ознак або спільноти |
|---------------------|---|
| альгоіндикація | Водоростей |
| ліхеноіндикація | Лишайників |
| бріоіндикація | Мохоподібних |
| фітоіндикація | Рослин |
| дендроіндикація | Деревних формацій |
| зооіндикація | Тварин |

Рис. 2 – Типи біоіндикації

Класифікація біоіндикації залежності від напрямів досліджень наведена на рис. 3 [11 - 17].

До основних, базових понять біоіндикації належать:

- індикатор – біологічна характеристика або ознака, яка дає уявлення про явища і процеси і використовується при оцінці параметра навколишнього середовища;

- індикат – параметр довкілля, який оцінюється (визначається).

Основними вимогами до індикатора та індикату є:

- 1) рівень точності та відгуку, тобто індикатор та індикат повинні між собою значуще та однозначно корелювати;

- 2) індикатор повинен характеризуватись критичним рівнем інформації або межами, в яких він працює та дає однозначну оцінку індикату за межами яких оцінка некоректна.

У природі всі види біоіндикації включені в ланцюг послідовно протікаючих реакцій і процесів. Якщо антропогенний фактор діє безпосередньо на біологічний елемент, то мова йде про пряму біоіндикацію. Але часто біоіндикація стає можливою лише після зміни стану під впливом інших безпосередньо задіяних елементів. В цьому випадку ми маємо справу з непрямою біоіндикацією і біоіндикатором. Часто бажано завчасно виявити

біологічну дію антропогенного фактору, для того щоб при відомих умовах мати можливість впливати на цю дію. Присутність дуже чутливих біоіндикаторів приводить до ранньої індикації, коли реакція проявляється при мінімальних дозах за короткий проміжок часу і проходить за короткий проміжок часу і проходить у місці дії фактору на елементарні молекулярні і біохімічні процеси.

| Біоіндикація | Галузь застосування |
|---|---|
| агроіндикація | оцінка природних угідь - пасовищ, сіножатей і т.д. з погляду сільськогосподарського використання, і навіть природних умов землеробства, садівництва, виноградарства, кормовиробництва тощо. |
| лісова індикація | розділ лісознавства та лісової типології, що вивчає оцінку лісорослинних умов та їх класифікацію за кліматичними та ґрунтовими факторами |
| гідроіндикація | оцінка глибини залягання та мінералізованості ґрунтових вод |
| геоіндикація та біогеохімічна індикація | оцінка геологічного складу та літології залягаючих близько до земної поверхні гірських порід та геохімічних особливостей території та пов'язаних з ними рудних та нерудних копалин |
| дендроіндикація | оцінка динаміки природних умов за характером утворення річних кілець деревних порід |
| ґрунтова індикація | оцінка екологічних режимів ґрунтів трофності, ступеня, характеру та глибини засолення, кислотності, режиму зволоження, вмісту органічних та мінеральних сполук |
| інженерна біоіндикація | оцінка характеру та ступеня техногенних порушень, у тому числі рівня забруднення навколишнього середовища |

Рис. 3 – Класифікація біоіндикації за напрямками досліджень

Біоіндикація може використовуватися на різних рівнях організації живого (макромолекула, клітина, орган, організм, популяція, біоценоз). З підвищенням рівня організації біологічних систем зростає і їх складність, так як одночасно все більше ускладнюються їх взаємозв'язки з факторами місцезнаходження. При цьому біоіндикація на нижчих рівнях діалектично включається в біоіндикацію на вищих рівнях, виступаючи на них в новій якості. В той час як на нижчих рівнях організації біологічних систем переважають

прямі і частіше специфічні види біоіндикації на вищих рівнях панує непряма біоіндикація.

Методологія проведення біоіндикації основана на використанні відповідних принципів і повинна відповідати певним вимогам.

Загальні принципи біоіндикації [11 - 17]:

- висока швидкість оцінки та легкість її виконання;
- чутливість до коливань визначених параметрів та отримання точних результатів, що відтворюються;
- досить висока чисельність індикатора, його однорідність та досить широка поширеність у різних географічних та екологічних умовах. Тобто, індикатор не повинен бути нечисленним, рідко зустрічатися і мати високу мінливість.
- індикатор повинен давати можливість кількісної оцінки ознаки, що досліджується;
- діапазон помилки біоіндикації в порівнянні з іншими методами не повинен перевищувати 20%.

Загальні вимоги до біоіндикації [11 - 17]:

- 1) методи біоіндикації повинні бути простішими і доступнішими за відповідні інструментальні методи дослідження екосистем, вибір індикаторів та оцінка можуть супроводжуватися складними розрахунками, але самі індикатори повинні бути максимально простими та інтуїтивно зрозумілими;
- 2) методи біоіндикації повинні бути не менш інформативними та наочними, ніж відповідні інструментальні методи;
- 3) методи біоіндикації мають бути не менш оперативними, ніж відповідні інструментальні методи;
- 4) методи біоіндикації повинні використовуватись на всіх рівнях організації екосистем;
- 5) методика біоіндикації не повинна мати кілька тлумачень, повинна бути достатньо стандартизованою, а також перевіряється, і при цьому можна порівняти з вимогами екологічного моніторингу;

б) результати біоіндикації мають бути досить точними та достовірними (безумовно, інструментальні методи будуть точнішими, але простота та оперативність отримання результатів методами біоіндикації має нівелювати меншу точність), при цьому результати біоіндикації мають бути науково обґрунтованими та забезпечувати можливість їхньої екстраполяції та прогнозування.

Оцінка рівня забруднення довкілля здійснюється шляхом визначення біомаси, біохімічних та біологічних параметрів, включаючи різноманітні мікроорганізми, рослини, тварини, які мешкають в досліджуваній території.

Узагальнена схема контролю якості атмосферного повітря за станом біоти включає наступні етапи, наведені на рис. 4. [16, 17].

| Етап | Сутність |
|----------------------------|---|
| Що ж визначати? | Відповідь обумовлює вибір об'єкта індикації (індикату) |
| Де ж визначати? | Відповідь зумовлює вибір способу та масштабу індикації |
| Чим визначати? | Відповідь визначає вибір конкретного індикатора та включає пошук та докази однозначного зв'язку індикатора та індикату |
| Як визначити? | Відповідь пов'язана з розробкою індикаційної шкали, в якій показники індикатора однозначно прив'язуються до параметрів, що досліджуються (показникам індикату). |
| Наскільки точно визначати? | Відповідь обумовлює визначення ймовірності помилки та точності біоіндикації |

Рис. 4 – Етапи біоіндикації

Для об'єктивної оцінки забруднення природного співтовариства необхідні адекватні тест-системи та біоіндикатори, що реагують на комплекс забруднювачів і придатні для виявлення забруднювачів в екосфері.

Тест-об'єкти (test-organism) – організми, що використовуються при оцінці токсичності хімічних речовин, природних та стічних вод, ґрунтів, донних відкладень, кормів та ін. певними факторами середовища, що можуть

застосовуватися для їхньої оцінки [18].

При виборі біотичних індикаторів як критерії використовують знання про біологію, біогеографію та екологію організмів, їх чутливість, рідкість виду, методичні особливості роботи з організмами та ін [18].

В ідеалі слід використовувати так звані «спектри» біоіндикаторів, які включають представників різних трофічних рівнів та типів харчування, різні життєві форми та стадії розвитку. Щоправда, часто виявляється неможливим охопити весь спектр, тому зазвичай беруть обмежену кількість індикаторів, які мають різні групи (рис. 5). [19, 20].

| Індикатори | Сутність |
|-------------------|--|
| специфічні | реагують лише на один конкретний фактор |
| неспецифічні | реагують на комплекс факторів |
| прямі | реагують безпосередньо на зміну фактора |
| непрямі | реагують на зміну фактора, пов'язаного з досліджуваним |
| активні | реагують зміну досліджуваної ознаки появою чи зникненням |
| пасивні | реагують на зміну досліджуваної ознаки зміною морфології, анатомії чи фізіологічних процесів |
| аккумулятивні | реагують на зміну фактора накопиченням хімічних елементів або сполук, пластичних речовин або інших продуктів життєдіяльності |
| прогностичні | вказують на напрям та характер динаміки екосистеми |
| діагностичні | вказують на певний стан навколишнього середовища чи екосистеми |
| макроскопічні | реакція у відповідь видно неозброєним оком |
| мікроскопічні | використання збільшувачих чи реєструючих приладів |

Рис. 5 – Класифікація біоіндикаторів

Усі біоіндикатори відрізняються за чутливістю. Залежно від швидкості прояву біоіндикаторних реакцій виділяють кілька різних типів чутливості тест-організмів (рис. 6), де [21 – 26]:

1. Індикатор реагує через деякий час після зміни ознаки, одноразова реакція різка і максимальна, зі швидким спадом до початкового рівня.

2. Індикатор реагує через деякий час після зміни ознаки, реакція різка та максимальна, що триває досить тривалий час з наступним спадом до початкового рівня.

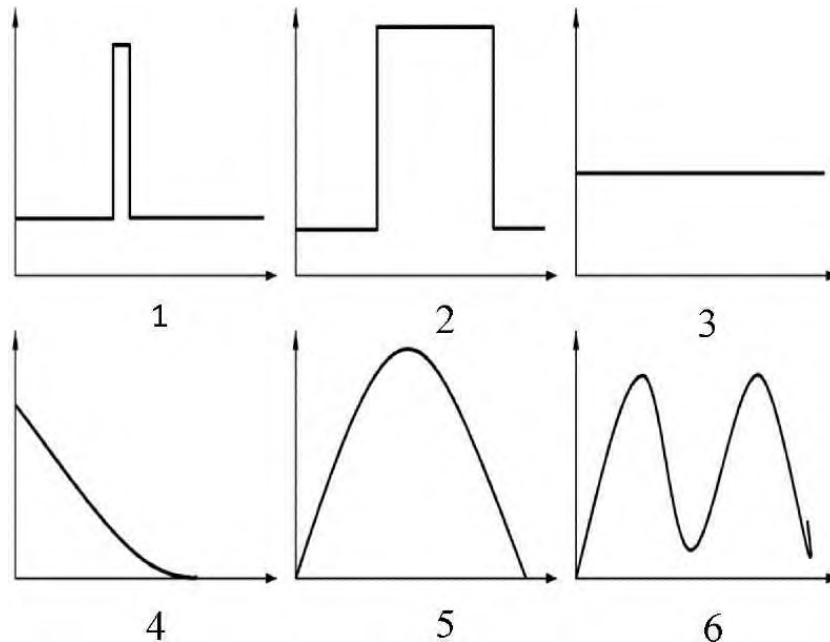


Рис. 6 – Чутливість біоіндикаторів

3. Індикатор після зміни ознаки реагує різко і відразу, реакція триває з однаковим характером прояву протягом тривалого часу.

4. Індикатор після зміни ознаки реагує різко і відразу, після чого інтенсивність реакції поступово спадає до початкового рівня.

5. Реакція поступово наростає з часом, досягаючи максимального значення, після чого поступово спадає до початкового рівня.

6. Реакція у відповідь характеризується коливальними змінами з циклами наростання і спаду, що повторюються.

Реєструючі біоіндикатори реагують на зміни стану навколишнього середовища зміною чисельності, фенотипу, пошкодженням тканин, соматичними проявами, зміною швидкості росту та іншими добре помітними ознаками (лишайники, хвоя дерев та ін.). Однак за допомогою реєструючих біоіндикаторів не завжди можна встановити причини змін, тобто фактори, що визначили чисельність, поширення, кінцевий вигляд або форму біоіндикатора.

Накопичуючі біоіндикатори концентрують забруднюючі речовини в тканинах, органах або частинах тіла, які згодом використовуються для хімічного аналізу (панцирі ракоподібних, личинок комах).

У залежності від індикаторних ознак та цілей біоіндикації біоіндикатори класифікують на [26]:

1. Індикатори екосистемні.

- Сигналізатори - види, сигналізують про нетипові для них умови місцеперебування, як правило це види екстремальних умов.

- Детектори - види, характерні для певних умов місцеперебування, чітко та що однозначно реагують на їх зміни.

- Ключові індикатори - види, що з'являються на певних стадіях сукцесії і зникають, коли стадія змінюється іншою.

- Індикатори деградації - види, що з'являються при катастрофічних порушеннях екосистем.

2. Індикатори факторні.

- Користувачі - індикатори появи будь-якого чинника, наприклад, хімічної речовини.

- Акумулятивні - накопичувачі якихось або хімічних речовин та сполук у своєму організмі.

- Біотести - види, що використовуються як тестові системи для оцінки стану навколишнього середовища.

3. Індикатори здоров'я.

- Індикатори оцінки асиметрії - види, що використовуються для оцінки відхилень ознак (наприклад, морфологічних) внаслідок впливу факторів середовища.

- Індикатори оцінки росту - види, розмір чи маса яких реагують дії чинників середовища.

Ознаки, що використовуються при проведенні біоіндикації [21 – 26]:

1. Наявність чи відсутність видів - аналізується за видовими списками.

2. Співвідношення між таксонами (родами, сімействами, класами тощо)

організмів.

3. Співвідношення між чисельністю організмів (числом особин, великою кількістю, проективним покриттям) в екосистемі або на різних трофічних рівнях.

4. Концентрація хімічних речовин чи сполук у організмах.

5. Показники процесів життєдіяльності: приріст, продуктивність, народжуваність і смертність, виживання.

6. Комплексні показники: відношення типів «дихання» до продуктивності, відношення продуктивності до біомаси, відношення продуцентів до консументів.

7. Холістичні показники, наприклад, характеристики біорізноманіття.

Методи біоіндикації можуть бути простими, це візуальний огляд, а також і складним, який включає вивчення імунних і генетичних змін біоіндикатора (організм-індикатор).

Основні види методів біоіндикації [21 – 26]:

– візуальний - включає визначення зовнішніх змін під дією несприятливого (забруднюючого) фактора (зміна забарвлення, крайове пожовтіння листя рослин, уповільнений ріст, слабкі стебла, утворення гнилі і т.д.). Широко застосовується у сільськогосподарській культурі;

– популяційні та екосистемні – в даних методах використовують популяційні чи екосистемні показники: чисельність та біомаса окремих видів, наявність тих чи інших видів у даному співтоваристві, а також їх співвідношенням, розподіл за великою кількістю і т.д. Метод дуже популярний для аналізу водних та лісових екосистем, оскільки у цих екосистемах легко відстежити динаміку змін тих чи інших показників;

– патолого-анатомічний та гістологічний методи - відносяться до групи методів біоіндикації з більш достовірними даними, які дозволяють зробити, довгострокові прогнози про вплив тих чи інших речовин на довкілля біоіндикаторів;

– ембріологічний метод – вивчає вплив змін у навколишньому

середовищі на розвиток живого організму на ранніх етапах розвитку (на етапі дроблення, формування зародкових органів). Як біоіндикатори виступають, як правило, живі організми, здатні до швидкого розвитку і дає численне потомство (малюски, риби, комахи, земноводні);

– також існує ряд більш точних та трудомістких методів: імунологічні (засновані на вивченні змін імунної системи живих організмів у відповідь на вплив несприятливого фактора); генетичні (аналіз генетичних змін, що виявляються у вигляді певних мутацій при впливі забруднюючої речовини на біоіндикатор) [26].

За допомогою методів біоіндикації можна досліджувати забруднення навколишнього середовища, що вже відбулося або відбувається, забруднюючими речовинами. Розробка єдиної системи показників токсичності речовин для довкілля дуже трудомістка. Біоіндикатори не можуть бути універсальними, їх необхідно підбирати для кожного середовища самостійно, виходячи з властивостей цього середовища. Також метод біоіндикації малоефективний у холодну пору року. Незважаючи на ці мінуси методи біоіндикації широко використовуються в усьому світі [1 – 26], це пов'язано з тим, що вони маловитратні, не вимагають громіздких і дорогих приладів, простота методу є безперечною перевагою [26].

Друга група методів вивчає реакції тест-об'єктів – організмів, які поміщаються у досліджуване середовище. Вони основані на оцінці токсичних властивостей забруднюючих речовин із використанням модельних живих систем (тест-об'єктів). Оцінка токсичності проводиться, як правило, у лабораторних умовах [21 – 26].

Біотестування як спосіб інтегральної оцінки токсичності забруднень вже давно використовується у системі моніторингу якості довкілля. Аргументами на користь доцільності використання підходів біотестування якості довкілля є їхня універсальність, експресність, простота, доступність та дешевизна.

Через високу чутливість тест-організмів до дії забруднюючих речовин ряд фахівців пропонують взагалі здійснити повну заміну всіх гігієнічних

нормативів єдиним критерієм якісної оцінки навколишнього середовища на основі біотестування. Зокрема, для виявлення залпових скидів забруднюючих речовин у водні об'єкти та особливо з метою виявлення різких змін якості питної води біотестування має значення як сигнальний показник експрес-контролю, що дозволяє вже протягом однієї години отримати дані інтегральної оцінки токсичності води та вжити необхідних заходів для захисту населення, у той час як органолептичні властивості води можуть залишатися без зміни, а на ідентифікацію речовин, що надійшли у воду, хімічними методами потрібно кілька годин і навіть діб [26].

При оцінці біологічної дії забруднюючих речовин, інтактні організми або їх співтовариства спеціально вводяться в досліджуване середовище. Таким чином, режим впливу задається заздалегідь.

Для дослідження загально-токсикологічних закономірностей застосовуються різноманітні методи практично з будь-якої сфери біології та суміжних наукових галузей. Узагальнюючою основою таких досліджень є вплив забруднюючих речовин, інших факторів середовища або їхньої сукупності на систему біологічного походження. Це може бути біохімічна система – виділений елемент клітинної структури організму; різні показники функції та структури організму; інтегральні властивості організму; параметри, що характеризують стан популяцій, угруповань, організмів та екосистем.

Тест-об'єкти повинні задовольняти низку вимог [21 – 26]:

- накопичення забруднюючих речовин не повинно призводити до загибелі тест-організмів;
- чисельність тест-організмів повинна бути достатньою для відбору, тобто без впливу на їх відтворення (рідкісні та зникаючі види навіть за їх високої чутливості не можуть служити тест-об'єктами);
- у разі довгострокових спостережень краще використовувати багаторічні види;
- тести-організми повинні бути генетично однорідними;
- повинна бути забезпечена легкість взяття проб;

- має реалізуватися відносна швидкість проведення тестування;
- біотести повинні забезпечувати отримання достатньо точних та відтворюваних результатів;
- біоіндикатори мають бути одновіковими та характеризуватись, за можливості, близькими властивостями;
- діапазон похибок вимірювань (порівняно з класичними чи еталонними методами тестування) не повинен перевищувати 20 - 30 %;
- при виборі тест-організмів перевагу слід надавати реєстрації функціональних, етологічних, цитогенетичних змін індикаторних процесів біоти, а не тільки зміни її структури, чисельності чи біомаси, тому що останні є більш консервативними.

Нині особливу увагу приділяється прийомам токсикологічного біотестування, тобто, використання у контрольованих умовах біологічних об'єктів як засіб виявлення сумарної токсичності.

Залежно від поставлених завдань пред'являються різні вимоги до методів та всієї системи біотестування (постановка дослідів та оцінка результатів).

Як об'єкти біотестування застосовуються різноманітні організми – бактерії, водорості, вищі рослини, п'явки, молюски, риби та ін. Кожен із організмів має свої переваги, але жоден організм не може служити універсальним об'єктом. Рослини можуть бути найбільш чутливими до присутності в середовищі гербіцидів, дафнії – до присутності інсектицидів тощо. Крім того, тест-реакція може виявити токсикант щодо його функції-мішені, наприклад, пропанід вибірково вражає фотосинтетичний апарат водоростей. У зв'язку з цим для гарантованого виявлення присутності токсичного об'єкта невідомого хімічного складу має використовуватися набір різних груп, представників спільноти. З введенням кожного додаткового об'єкта ефективність схеми випробувань підвищується, проте немає сенсу нескінченно розширювати кількість обов'язкових об'єктів для використання у такій оцінці.

Оптимальною може бути система, в яку включено три – п'ять видів, стан

яких оцінюється за параметрами, що належать до різних рівнів інтегральності. Для контролю самого тест-об'єкта необхідна періодична постановка дослідів з деяким стандартним токсикантом в одній концентрації. Цей контроль дозволяє оцінити зміну реактивності тест-об'єкта на стандартний токсичний вплив.

Важлива умова правильного проведення біотестування – використання генетично однорідних лабораторних культур, оскільки вони проходять перевірку чутливості, розміщуються у спеціальних, обумовлених стандартами лабораторних умовах, що забезпечують необхідну подібність та відтворюваність результатів досліджень, а також максимальну чутливість до токсичних речовин.

Тривалість біотестування залежить від завдання, поставленого дослідником. Існують такі види біотестів [10, 12, 26]:

- швидкі біотести (acute tests), що виконуються на різних тест-об'єктах за показниками виживання, тривають від кількох хвилин до 24 - 96 год;
- короткострокові (short-term chronic tests) хронічні тести, що тривають протягом семи діб і закінчуються, як правило, після отримання першого покоління тест-об'єктів;
- хронічні тести (chronic tests), поширюються на загальну плодючість, охоплюючи мінімум три покоління.

Перевага даних методів у тому, що вони відбивають ступінь небезпеки у навколишньому середовищі всім живих організмів, зокрема й у людини. Біологічні методи є інтегральними і дозволяють повною мірою оцінити стан навколишнього середовища, підсумовують усі без винятку біологічно важливі дані про навколишнє середовище, виявляють наявність у ньому комплексу забруднювачів, а також здатні вказати на місця та шляхи скупчень різного роду забруднювачів та виявити можливі шляхи їх потрапляння в екологічні системи. [1 – 26].

1.3. Біоломінесцентний метод оцінювання якості повітря

Сьогодні багато країн переходять на ферментативну систему оцінки якості довкілля, оскільки ця система дозволяє безпосередньо виявити вплив шкідливих речовин на організми чи визначити яку частину організму вони мають більший вплив.

Одним із таких методів є біоломінесцентний. Перевага біоломінесцентного методу полягає в тому, що свічення можна легко та точно зареєструвати на відміну від інших тест-параметрів, що використовуються в біотестуванні (летальний результат, швидкість росту, інтенсивність дихання, флуоресценція хлорофілу тощо) [27 – 31].

Біоломінесценція – це явище випромінювання світла живими організмами, пов'язане з хемілюмінесцентними реакціями, що каталізуються спеціальними ферментами – люциферазами [27, 28].

В основі світіння всіх живих організмів лежить хемілюмінесцентний процес перетворення енергії, в якому беруть участь специфічні ферменти – люциферази, органічні молекули – люциферини та кисень [30, 31].

Біоломінесценція з точки зору біомоніторингу є зручним тест-параметром, який може відображати стан біоломінесцентного тест-об'єкта за умов забруднення. На даний момент існує безліч аналітичних методів та біотестів заснованих на використанні біоломінесценції *in vivo* та *in vitro* [28 – 31].

Біоломінесцентні бактерії, що використовуються в біотестуванні.

За сучасною класифікацією біоломінесцентні бактерії належать до родів *Photobacterium*, *Vibrio*, *Lucibacterium*. Люмінесцентними видами роду *Photobacterium* є: *P. phosphoreum* та *P. leiognathi*. Люмінесцентними видами роду *Vibrio* є: *V. fischeri*, *V. logei*, *V. harveyi*, *V. Splendida* [32 – 34].

Сучасна таксономія біоломінесцентних бактерій остаточно не визначена і постійно розвивається, у зв'язку з цим класифікація постійно змінюється [35 – 37].

Бактерії, що світяться, вільно мешкають у морській воді, відносяться до

сапрофітів: вони харчуються органічними речовинами, розчиненими в морській воді, розкладають останки померлих тварин і рослин, часто оселяються на мертвій рибі і кальмарах [38, 39].

Усі фотобактерії грамнегативні рухливі палички, факультативні анаероби, хемоорганотрофи (вуглеводи, спирти, органічні кислоти тощо) [31].

Більшість видів біолюмінесцентних бактерій виділяють хітиназу, амілазу, ліпазу, желатиназу [32].

Культивування бактерій, що світяться, можливе на штучних середовищах при додаванні NaCl 2-3 %, різні види бактерій культивуються при різних температурах, наприклад, *Vibrio harveyi*, *Vibrio fischeri*, *Photobacterium leiognathi* оптимально ростуть при 25°C і є мезофілами, а *Photobacterium* більш низьких температурах, оскільки є криофілом. *Photobacterium phosphoreum* може жити у водах, де t води нижче 15 °C (на глибині океану понад 500 метрів) [29, 30, 36].

Можливість широко застосовувати властивості біолюмінесцентних бактерій як тест-об'єктів стало можливим завдяки біотехнології – рекомбінатних бактерій [43, 44].

Біотести на основі живих біолюмінесцентних бактерій, відрізняються від біотестів засновані на інфузоріях, дафніях, водоростях, рибах, тим, що в якості тест-параметру використовується біолюмінесценція. Чутливість бактерій до різних речовин, що забруднюються, залежить від штаму бактерій, умов їх культивування (складу поживного середовища, рН середовища, фази росту бактерій і т.д.).

Біотести на основі бактерій, що світяться, часто перевершують відомі і широко застосовні біотести, тим, що мають високу чутливість, швидкодіючі, більш точні, прості в застосуванні і дозволяють контролювати одночасно кілька забруднюючих речовин.

Дослідженнями в цій галузі займалися багато науковців: Belkin (2003), Vulich (1982), Hastings (1963, 1965, 1968, 1969, 1977, 1985), Heitzer (1994) та інші. Область застосування біотестів на основі біолюмінесцентних бактерій

дуже широка та представлена в таблиці 1 [25, 26, 27, 32 – 34, 44, 45, 46].

Таблиця 1 – Біотести на основі біолюмінесцентних бактерій

| Назва | Речовини, що визначають |
|---|--|
| Аналіз забруднення харчових продуктів мікотоксинами, (7,53-31,79-мкг/мл) | Рубратоксин В, зеараленон, пеніцилін, патулін, цитринін, охратоксин А, РР-токсин, афлатоксин В1 |
| Визначення антибіотиків (0,2 мкг/мл) | Тетрациклін, хлорамфенікол, стрептоміцин, неоміцин, гентаміцин, канаміцин |
| Виявлення токсичних речовин у водних системах (промислові стічні води тощо) | Ароматичні вуглеводні, дихальні отрути, фенольні сполуки та продукти їх деструкції, сульфатний лігнін, фракції стоків, фенолоксидази, детергенти, пестициди, важкі метали, кобальт, відходи виробництва стабілізаторів |
| Виявлення токсичних речовин у повітряному середовищі (компоненти ракетного палива та ін.) | Диметилгідразин, альдегіди, спирти, ацетон, HCN, SO ₂ , H ₂ S, Cl ₂ , продукти опромінення суміші NO ₂ та цис-2-бутену |
| Виявлення забруднення середовища гербіцидами | Монурон, діурон, нефурон, атразин |
| Визначення бактерицидної активності у сироватці людини | Імуноглобуліни, комплєменти |
| Моделювання впливу хімічних та фізичних факторів | Температура, тиск, лікарські препарати, анестетики (галотан), гліцерин, сахароза |
| Тести на мутагенність | Мутагени |

| | |
|---|--------------------------------|
| Поява продуктів окислення керогену сланців у технологічних процесах | Високомолекулярні кислоти тощо |
| Визначення токсичності середовища для риб | Органічні речовини |

Біоломінесцентні бактерії як тест-об'єкти використовуються можуть застосовуватися у декількох видах: суспензія клітин, тверде середовище, ліофілізовані препарати.

Клітинна суспензія широко застосовується для оцінки токсичності стічних вод целюлозної промисловості, внаслідок забруднення їх фенольними сполуками та продуктами їхнього розпаду [27, 28].

Використання твердих середовищ для оцінки токсичності дозволяє багаторазово використовувати ту саму культуру клітин у високочутливих детекторах для безперервного контролю забруднення, наприклад повітря в шахтах, гірничих виробках і штольнях [27, 28].

Ліофілізовані бактерії є стандартними тест-об'єктами для вимірювання інтегральної токсичності досліджуваних водних зразків, що виключають необхідність культивування бактерій у лабораторних умовах і тим самим підтримують бактеріальні культури.

Біотести на основі використання ферментативних реакцій люмінесцентних бактерій.

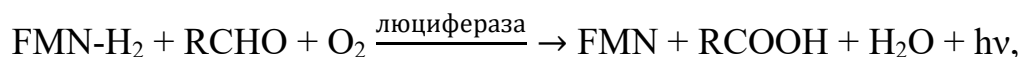
У біологічному моніторингу на основі біоломінесцентних систем тривалий час використовували тільки інтегральний метод оцінки токсичності на бактеріях, що світяться. Незважаючи на це, в літературі є дані, що показують високу чутливість люцеферазних реакцій до дії токсичних речовин [27, 28, 31].

Порівняння впливу токсичних речовин на біоломінесценцію *in vivo* та *in vitro* вивело залежність між ступенем токсичності в аналізованому зразку та параметрами світіння в обох біоломінесцентних системах, але в системі *in vitro* чутливість у більшості випадків вища у 100 іноді 1000 разів.

Також встановлено, що всі зміни, що відбуваються в організмі під дією забруднюючих речовин, починаються на молекулярному рівні, у зв'язку з цим

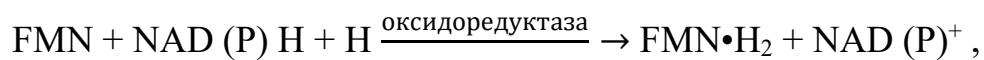
використання як тест-об'єктів ферментів життєдіяльності біоломінесцентних бактерій як один із параметрів, що відповідають за світіння - є закономірним і виправданим.

Всі види люцифераз різних видів біоломінесцентних бактерій, каталізують одну і ту ж реакцію, де в якості субстратів представлений флавінмононуклеотид і кисень, а в якості косубстрату - довголанцюговий аліфатичний альдегід:



де FMN і FMN•H₂ - окислена та відновлена форма флавінмононуклеотиду, RCOH та RCOOH - довголанцюговий аліфатичний альдегід та відповідна жирна кислота.

Вважається, що в бактеріях реакція, що каталізується люциферазою, пов'язана з другою ферментативною реакцією, що каталізується NADH: FMN-оксидоредуктазою:



де NAD(P)H і NAD(P)⁺- окислена і відновлена форма нікотинамідаденіндинуклеотиду.

Люцифераза біоломінесцентних бактерій є гетеродимером з молекулярною вагою 75 кДа, що складається з α і β субодиниць (α- 40 кДа, β- 35 кДа), які кодуються luxA і luxB генами люциферазного оперону. Прийнято вважати, що α-субодиниця має каталітичні властивості, а β -субодиниця бере участь у формуванні конформації активного центру [31, 32].

Також відомо, що на бактеріальній люциферазі розташовано по одному центру зв'язування для субстратів - флавінмононуклеотиду та альдегіду. При цьому спорідненість люциферази до своїх субстратів велика [27, 28, 31].

Світловипромінювання бактеріальної біоломінесценції спостерігається в синьо-зеленій частині видимого спектру з максимум довжин хвиль 478-505 нм з інтенсивністю емісії від 10³ до 10⁵ квант/с•кл у залежності від виду бактерій. Кількість випромінюваного світла прямо пропорційна кількості люциферази та

кожного із субстратів.

Використання ферментів у біотестах дозволяє збільшити достовірність результатів за рахунок того, що система переходить від живого об'єкта до реактиву, спрощуючи аналіз, роблячи його експресним і автоматизованим за рахунок використання іммобілізованих реагентів. Стає можливим регулювати чутливість фізико-хімічних біотестів, а також створити систему біотестів для біомоніторингу шляхом використання ланцюгів сполучення ферментів з бактеріальною люциферазою. Варіювання чутливості ферментативних тестів обумовлюється зміною умов проведення аналізу, а саме використання ферментативних реакцій з різним механізмом сполучення з реакцією, що каталізується бактеріальною люциферазою: зміною складу реакційної суміші (кількості ферменту та субстрату, обсяг аналізованої проби з різним вмістом токсичної суміші); зміною послідовності додавання компонентів реакції; використанням різних форм препаратів ферменту (фермент з різним ступенем очищення, ліофілізовані або іммобілізовані препарати ферментів і т.д.) [32, 43, 44].

На даний момент розроблено та впроваджено безліч інтегральних біолюмінесцентних методів *in vivo* та *in vitro* для безперервного експрес-контролю стану навколишнього середовища в промислових районах та природногосподарських комплексах. За допомогою таких експрес-методів контролюють залпові викиди шкідливих речовин підприємствами, оцінюють ефективність детоксикації стічних вод та роботу очисних споруд, а також оцінюють екологічну небезпеку підприємств та окремих районів [15, 16, 31, 43].

Вплив хімічних сполук на біолюмінесцентні тест-об'єкти

Люмінесцентні бактерії є еталонним тест-об'єктом в екологічному контролі, оскільки поєднують у собі різні типи чутливих структур, що відповідальні за генерацію біоушкоджень (клітинна мембрана, ланцюги метаболічного обміну, генетичний апарат тощо), з об'єктивним якісним та кількісним характером відгуку на інтегральний вплив шкідливих речовин. Все це забезпечується ферментом люциферазою, який забезпечує ефективну

трансформацію енергії хімічних зв'язків життєвоважливих метаболітів у світловий сигнал на рівні, який доступний для експресних та кількісних вимірів.

Інтегральні біотести на основі біоломінесценції працюють за принципом забезпечення інтегральної зміни біоломінесцентного сигналу у відповідь на появу в об'єкті, що аналізується, широкого класу забруднюючих речовин. Люмінесцентні біотести розробляються на основі вивчення впливу полютантів та ксенобіотиків на саму реакцію біоломінесценції [31].

Інгібітори та активатори біоломінесценції можна класифікувати у відповідності з механізмом їх впливу на фізико-хімічні процеси в клітині (міграція енергії, електрона, міграція водню, який у полярних розчинниках можна розглядати як суму протонів та електрона) [31, 32].

Зміна ефективності даних процесів при додаванні шкідливих речовин до біоломінесцентної системи залежить від фізико-хімічних властивостей шкідливої речовини (спорідненість до електрона, редокс-потенціал, квантовий вихід флуоресценції, енергія та природа електронно-збуджених станів, перекриття спектру поглинання молекул та розмір гідрофобних заступників, включення до структури полютанту важких атомів тощо).

Аналіз літератури та експериментальних даних демонструє цілий спектр можливих механізмів впливу різних речовин на біоломінесценцію *in vitro*. Коли інгібітор (речовина, за якої інтенсивність біоломінесценції знижується) вноситься в реакційну суміш до ініціювання реакції, можуть проходити наступні процеси [20, 31, 39]:

1. Хімічна модифікація амінокислотних залишків, зокрема активному центрі ферменту.
2. Конкурентні та інші типи відносин між субстратами люциферази, НАДН: ФМН-оксидоредуктази та інгібіторами.
3. Гасіння збудження та руйнування інтермедіатів.
4. Дія на дегідрогенази через неспецифічні акцептори електронів та інгібітори дихального ланцюга.

5. Взаємодія з альдегідами залежно від ліпофільності сполук, що вводяться.

В силу багатокomпонентності ферментної системи один інгібітор може діяти по кількох з цих шляхів. Такі складні взаємодії між компонентами реакцій біолюмінесценції і речовинами, що додаються, знаходять відображення в складній зміні параметрів світіння.

Отже, екологічні реалії сьогодення є множиною факторів, які продуковані різними за походженням джерелами забруднення. Їх функціонування характеризується сукупністю величин, змінних в часі та підпорядкованих геопросторовим особливостям території. Відтак, забезпечення декларованої державою безпечної для життя та здоров'я якості довкілля чи окремого його компоненту вимагає врахування не лише якісних й кількісних показників емісій, але і системного аналізу. Реалізація цього завдання неможлива без використання методів біоіндикації з метою діагностики якості навколишнього середовища. Вивчення біоіндикаційних властивостей окремих видів дозволить встановити наявні зміни якості довкілля. Прогностична функція біоіндикаційних методів в цьому контексті є вкрай затребуваною завдяки уможливленню ефективних управлінських рішень і заходів щодо зниження величини техногенного навантаження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Пробовідбір

Пробообробка включає: відбір проб, обробку проб з їх подальшою консервацією і транспортуванням, зберігання проб, підготовка до аналізу. Для того щоб результати були максимально правильними необхідно вибрати оптимальний метод відбору проб, також важливим є місце відбору проб і чистота пробовідбірників та тари для її зберігання. Підготовка проб переважно здійснюється методом концентрування, також існує метод хімічної модифікації досліджуваної речовини. Концентрування відбувається двома шляхами: сорбція на твердих поверхнях або екстракція розчинником та методом зменшення об'єму проби (шляхом випарювання, виморожування або співосадження) [48, 49].

Способи відбору проб. Відбір проб повітря здійснюється згідно з РД 52.04.186-89 на спеціальних постах (стаціонарні, маршрутні, пересувні (підфакельні)). На стаціонарних постах здійснюється регулярний відбір проб повітря та призначений для безперервної реєстрації вмісту забруднюючих речовин в атмосфері. Маршрутні пости призначені також для регулярного відбору проб, якщо немає можливості встановити стаціонарні пости у тих чи інших точках місцевості або у разі вилучення проб повітря в окремих районах. Пересувні (підфакельні) пости служать для відбору проб безпосередньо під димовим (газовим) факелом для виявлення зони впливу даного джерела [48, 49].

Одночасно з відбором проб проводиться вимірювання деяких метеорологічних параметрів: температура повітря, швидкість і напрям вітру, стан погоди та ін. Існує кілька режимів відбору проб: разовий - 20-30 хвилин, що триває; дискретний - при якому один поглинальний прилад або на фільтр протягом доби через рівні проміжки часу відбирається кілька проб (3-8 разових проб); добовий – проби відбираються безперервно протягом доби [48, 49].

Відбір проб повітря ділять на дві великі групи: аспіраційний спосіб відбору проб і відбір проб у газові піпетки, і судини [48, 49].

Аспіраційні способи відбору проб повітря - засновані на пропусканні певного об'єму повітря через поглинальне середовище (сорбент або розчин) або спеціальні фільтри, це залежить від стану, властивостей та якості речовини, що вимірюється. Для цього необхідно використовувати поглинальний прилад з поглинальним середовищем або патрон з фільтром, аспіратор та реометр (ротаметр).

Газоподібні речовини легше розчинити в рідких розчинах, розчини підбирають залежно від того якою мірою дана речовина розчиняється і здатна реагувати з сорбентом, в деяких випадках також застосовується тверді сорбуючі поверхні, здатні утримувати в собі газоподібну речовину.

Як рідкі поглиначі часто використовують: дистильовану воду, органічні розчинники, спирти, і спеціальні поглинальні суміші, якими наповнюються поглинальні прилади. До твердих поглинальних середовищ відносяться зернисті сорбенти - силікагель, активоване вугілля. Для вимірювання токсичних речовин тверді сорбенти поміщають у поглинальні прилади або спеціальні трубки. Для дослідження аерозолів використовують спеціальні фільтри (аналітичні аерозольні фільтри) з тонких волокон [48, 49].

Для пропускання досліджуваного повітря через поглинальне середовище використовують спеціальні прилади: водний аспіратор, електроаспіратори, пирососи, водоструминні насоси і т.д.

Найпростішим приладом є водний аспіратор, облаштований за принципом сполучних судин. Об'єм води дорівнює кількості повітря, протягнутого через поглинальний прилад. Швидкість пропускання такого аспілятора в середньому дорівнює 1-2 л/хв.

Електроаспіратори працюють за таким же принципом, як і водні аспіратори, але на відміну від простого водного аспілятора забезпечені кількома реометрами для визначення швидкості пропускання повітря (швидкість 0,1-1 л/хв і 10-20 л/хв). Також електроаспіратори дають змогу

відбирати кілька проб одночасно.

Пилососи та водоструминні насоси використовуються спільно з реометром або ротаметром, для визначення об'єму повітря, що проходить через поглинальне середовище або фільтри. Ще один дуже поширений прилад це ежекторний аспіратор, що має балон зі стисненим повітрям, його використовують в умовах, де не можна застосувати електроаспіратор (за наявності в повітрі вибухонебезпечних газів у шахтах, на хімічних підприємствах). Час фіксують за допомогою секундоміра при включенні та вимкненні приладу [48, 49].

Відбір проб у судини або газові піпетки. Цей метод використовується, якщо концентрація досліджуваної речовини в повітрі дуже висока і для визначення даної речовини немає необхідності відбору великого обсягу повітря.

Відбір проб у газові піпетки (бутлі): судини наповнюються рідиною, яка не здатна реагувати та розчиняти досліджувану речовину. Як розчинник використовують насичений розчин хлористого натрію, воду і т.д. Дану рідину виливають у місці відбору проб, а отвори в судинах закривають.

Відбір проб вакуумним способом: відбір проводиться в бутлі та газові піпетки об'ємом 1-2 літри. Видалення повітря з посудини здійснюється за допомогою вакуумного насоса (насос Комовського), ступінь розрядження повітря визначається відкритим ртутним манометром або вакуумометром. Для відбору проб повітря виймають скляну паличку і поступово відкривають затискач, через створювану різницю тиску досліджуване повітря потрапляє в посудину, після відбору проби затискачі закривають.

Відбір проб обмінним способом: сулію або газову піпетку приєднують до аспіратора і пропускають через нього десятикратний об'єм повітря зі швидкістю 2 л/хв. Для того, щоб речовина не осідала на стінках судин. Потім після відбору проб посудину від'єднують від аспіратора, закривають крани, а гумові трубки затискають.

Відбір проб повітря в гумові камери: відбір проб у такий спосіб можна

проводити лише в тому випадку, якщо досліджувана речовина не реагує з гумою. Зазвичай для цього способу використовують камери футбольних м'ячів. У камеру за допомогою насоса закачується повітря, а повітря, що випускається, збирається в мішки Дугласа [48, 49].

У роботі відбір проб проводився трьома різними способами:

- 1) відбір проб адсорбційним способом з допомогою сорбційних трубок зі спеціальними гранулами;
- 2) відбір проб з допомогою медичних шприців;
- 3) відбір проб аспіратором та судинами Ріхтера.

Відбір проб повітря проводився на 8 локаціях в межах зони розташування ОНТУ.

Відбір проб: сорбційну трубку обробляли розчином для уловлювання забруднюючої речовини - сорбентом. Розчин розподіляли шаром гранул, домагаючись рівномірного змочування всього вмісту. Подальший пробовідбір проводився згідно з РД 52.04.186-89 [48, 49].

Після процедури пробовідбору в лабораторії сорбційну трубку поміщали у пробірку (шаром сорбенту вниз) і прокачували розчин поглинача через сорбент за допомогою гумової груші, яку одягають на кінець сорбційної труби, тим самим переводячи пробу в розчин. Далі розчини піддавали аналізу.

Для визначення концентрації кожної забруднюючої речовини використовувався відповідний поглинач.

Приклади складу поглиначів:

- для визначення концентрації HCl (азотна кислота, гліцерин, галун залізо-амонійний, вуглекислий натрій, спирт етиловий, калій роданистий);
- для визначення концентрації формальдегіду (кислота соляна, натрію гідроксид, спирт етиловий, фенілгідрозин солянокислий, тіосульфат натрію, калій йодид, калій дихромат);
- для визначення концентрації SO₂ (бутанол-1, ч.д.а., вода, перекис водню, х.ч., гліцерин, ч.д.а., ортофосфорна кислота х.ч., трилон Б, ч.д.а., натрію гідроксид, розчин, натрію тіосульфат, розчин, формальдегід, 40%-ний

(формалін), етиленгліколь, ч.д.а.).

Після пробовідбору проби відразу аналізують або консервують (переливають у скляні флакони і зберігають у холодильнику протягом доби при температурі +4 С°).

Відбір проб повітря здійснювали за допомогою шприців об'ємом 60 мл. Проганяючи повітря через шприц кілька разів, набирали повний обсяг (60 мл) повітря. Аналіз проб повітря проводили двома способами:

1. Вміст шприца вводили безпосередньо реакційну суміш і проводили вимірювання. Варіюючи обсяг повітря, що пропускається через реакційну суміш;

2. Вміст шприца вводили в 1 мл дистильованої води. Аналіз проб повітря здійснювався шляхом додавання 50 мкл аналізованого розчину до реакційної суміші.

Проби повітря, відібрані аспіратором у судини Ріхтера. Відбір проб атмосферного повітря проводили за допомогою аспіратора ПУ-4Е та судин Ріхтера. Як поглиначі були обрані: вода дистильована 5 мл, ацетон 95% 5 мл, спирт етиловий 96% 5 мл. Швидкість пропускання повітря через поглинач 2 л/хв. Повітря відбиралося в обсягах: 10 л., 20 л., 40 л., 60 л. Після процедури пробовідбору розчини аналізувалися.

2.2. Реактиви та матеріали

У роботі використовували комплект реактивів аналітичної біоломінесценції (один флакон містив 0,5 мг/мл люциферази *Photobacterium leiognathi* ЕС 1.14.14.3 з рекомбінантного штаму *Escherichia coli* та 0,18 од. активності НАДН:ФМН-оксидоредуктази ЕС 1.5.1.29 (*Vibrio fischeri*)), НАДН ("Sigma", США), ФМН ("Serva", Німеччина), тетрадеканаль ("Merck", Німеччина), калій-фосфатний буфер 0,05 М.

Перед вимірами у флакон для аналітичної біоломінесценції вносили 5 мл калій фосфатного буфера (0,05 М). Потім отриманий розчин дозували по 500 мкл у скляні флакони. Флакон, що містить 500 мкл розчину, зберігали на льоду

та використовували для аналізу протягом шести годин після приготування.

2.3. Методика визначення активності біферментної системи НАДН:ФМН-оксидоредуктаза-люцифераза

Вимірювання проводили на кюветному люмінометрі GloMax 20/20.

Активність біферментної системи НАДН:ФМН-оксидоредуктаза-люцифераза вимірювали в реакційній суміші наступного складу: 300 мкл буфера, 5 мкл розчину для аналітичної біолюмінесценції, 100 мкл НАДН, 50 мкл ФМН. У кювету послідовно вносили всі компоненти реакційної суміші, поміщали планшет в рідер і реєстрували величину максимальної інтенсивності світіння I_{\max} .

Для дослідження впливу проб повітря на біферментну систему спочатку реєстрували контрольне світіння (I_0) біферментної системи реакційної суміші в присутності поглинача без проби повітря. Далі вимірювали інтенсивність світіння у присутності досліджуваної проби (I_d). У ході роботи варіювали обсяг розчину для аналітичної біолюмінесценції та обсяг досліджуваної проби для збільшення чутливості системи.

Вплив проби, що аналізується, на активність біферментної системи НАДН:ФМН-оксидоредуктаза-люцифераза визначали за величиною залишкового світіння:

$$T = (I_d \div I_0) \times 100\%,$$

де I_d - інтенсивність світіння у присутності досліджуваної проби, I_0 - контрольна інтенсивність світіння.

Статистична обробка результатів. Визначення проводили у трьох паралельних повторностях. Помилку вимірювання розраховували за допомогою t-критерію Стьюдента з рівнем значущості $t = 0,05$.

Для статистичної обробки результатів використовували пакет прикладних програм EXCEL (Microsoft, США).

РОЗДІЛ 3

ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ПЕРЕВІРКА ВИКОРИСТАННЯ БІОЛЮМІНЕСЦЕНТНИХ ПЛАТФОРМНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ДЛЯ ОЦІНКИ РІВНЯ ЗАБРУДНЕННЯ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ

Завдяки високій чутливості до поллютантів біоломінесцентні системи знайшли широке застосування як біотести в екологічному моніторингу навколишнього середовища, особливо це стосується природних водойм та атмосферного повітря.

Відгук біоломінесцентних систем на вплив поллютантів є інтегральним та зумовлений складною дією екзогенних сполук на біоломінесценцію. На сьогоднішній день вивчення механізмів впливу на біоломінесценцію різних класів хімічних сполук є актуальним, оскільки дозволяє прогнозувати чутливість біоломінесцентних тестових систем до поллютантів. Для цього використовується експериментальний підхід, заснований на використанні рядів сполук з різними фізико-хімічними характеристиками, який дозволяє встановити кореляції між зміною кінетичних параметрів біоломінесценції та фізико-хімічними властивостями цих сполук. Такі кореляції тісно пов'язані з фізичним механізмом біоломінесценції та є біофізичною основою біоломінесцентного моніторингу.

Біоломінесценція – це явище випромінювання світла, яке є результатом ферментативно-каталізованої реакції окиснення в живих організмах. Біоломінесценцію можна знайти майже в усіх царствах життя з різними люциферазами та люциферинами, ферментами та світловипромінюючими молекулами, які беруть участь у випромінюванні світла відповідно [28]. Отже, спектральний діапазон світлового випромінювання біоломінесцентних організмів охоплює приблизно 400-700 нм, тобто від синього до зеленого світла. Найпоширенішими кольорами світловипромінювання є відтінки синього, за якими слідує зелений. Існують також види, які випромінюють

фіолетове, жовте, оранжеве або червоне світло, але вони менш поширені. Перевага відображення саме таких кольорів пов'язана з особливостями середовища, в якому переважно знаходяться біоломінесцентні організми, зокрема, морської води. Синє світло (з максимальним піковим значенням приблизно 475 нм) найкраще проникає у це середовище, що пояснює його превалювання у біоломінесценції [34, 39].

Один із ключових компонентів, що є загальним для більшості біоломінесцентних реакцій, – це залежність від кисню. Хоча молекулярний кисень виступає окислювачем у всіх випадках, каталізуються різні біохімічні реакції, а різні молекули використовуються як люциферини. Фактично, ферменти, які відповідають за утворення збуджених люциферинів, унаслідок еволюційного процесу не мають ні генетичного, ні білкового споріднення [32].

Особливий інтерес представляє вивчення впливу на біоломінесценцію редокс-активних сполук, серед яких величезна кількість поллютантів, наприклад, хінони та феноли. Окислювально-відновлювальний потенціал середовища є одним із головних факторів, що регулює метаболічні процеси та відіграє важливу роль у фізіології живих організмів. На тлі загального неблагополуччя стану навколишнього середовища редокс зміни середовища можуть бути викликані дією поллютантів, і негативно впливати на живі організми. Тому для екологічного моніторингу важливим є застосування біотестів, чутливих до редокс-активних сполук.

Оцінку можливості застосування біоломінесцентного методу для аналізу забруднення атмосферного повітря, здійснювали шляхом варіювання методів відбору проб повітря, підбору якісного та кількісного складу поглиначів.

У ході проведеного дослідження було отримано такі дані.

3.1. Вплив проб повітря, відібраних за допомогою сорбційних трубок, на активність біоломінесцентної біферментної системи бактерій.

Для досліджуваних розчинів, підготовлених для визначення вмісту в атмосферному повітрі SO_2 , NO , HF , CH_2O , HCl , достовірних відмінностей

активності біоломінесцентної біферментної системи у поглинач та поглинач з пробою відібраного повітря не спостерігалось. Виняток склали проби визначення NO_2 . У цьому випадку залишкова інтенсивність світіння біферментної системи поглинач з пробою відібраного повітря склав 15%, у той час як залишкова інтенсивність світіння в присутності тільки поглинач склала 50% (рис. 1).

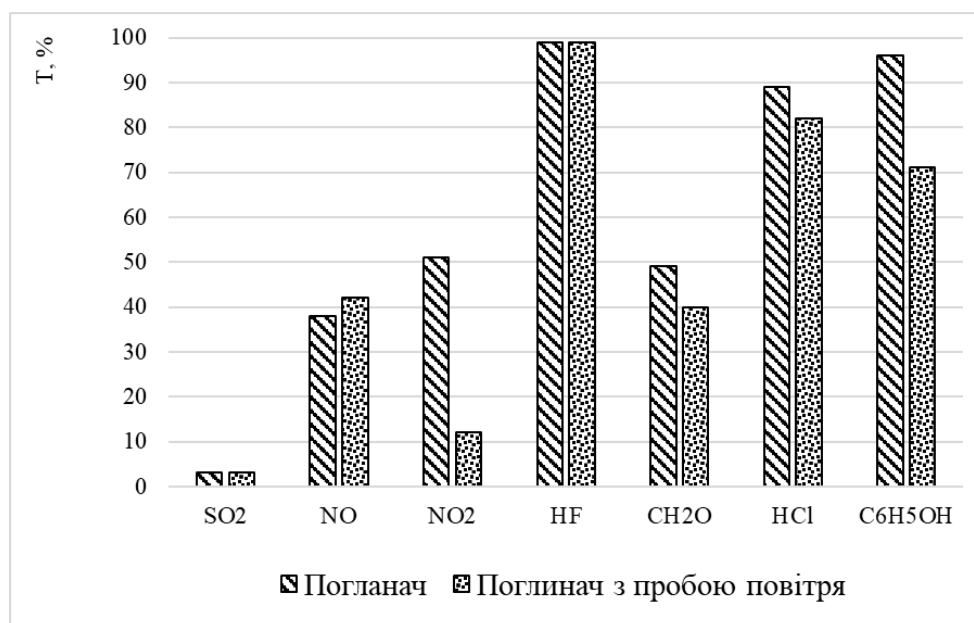


Рис. 1 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи при додаванні поглинач та поглинач з пробою повітря, підготовлених для визначення концентрацій забруднюючих речовин у пробах повітря.

Окрім того, внаслідок різного складу поглиначів спостерігався різний вплив поглиначів на активність біферментної системи. Так у разі поглинач підготовленого для визначення концентрації SO_2 залишкова інтенсивність світіння системи склала не більше 3%, а у разі HF аналізовані розчини не вплинули на активність біферментної системи і величина залишкової інтенсивності світіння системи склала 100%.

Паралельне дослідження аналізованих проб фотометричним методом наведено в таблиці 2.

Згідно з результатами, отриманими фотометричним методом, концентрації всіх досліджуваних речовин у день відбору проб знаходилися в межах ГДК.

Також було проаналізовано вплив проб повітря на активність біферментної системи залежно від часу відбору проб, на прикладі формальдегіду та фенолу. Проби відбиралися 4 рази на добу (9:00, 12:00, 15:00, 18:00). Результати аналізу показали, що достовірних відмінностей активності біферментної системи немає для всіх аналізованих проб (рис. 2).

Таблиця 2 – Характеристика аналізованих проб повітря

| Речовина | Концентрація речовини, мг/м ³ |
|----------------------------------|--|
| SO ₂ | 0,001 |
| NO | 0,01 |
| NO ₂ | 0,04 |
| HF | 0,002 |
| CH ₂ O | 0,006 |
| HCl | 0,04 |
| C ₆ H ₅ OH | 0,007 |

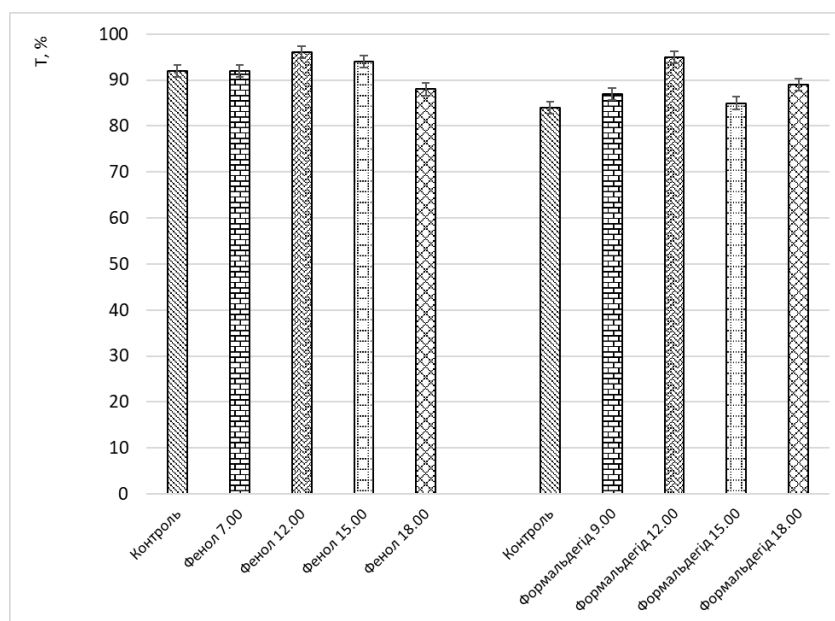


Рис. 2 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи при додаванні поглинача та поглинача з пробкою повітря, підготовлених для визначення концентрацій фенолу та формальдегіду, відібраних у різний час протягом доби.

Таким чином, вплив проб повітря, відібраних за допомогою сорбційних трубок в поглинач на активність біферментної системи НАДН:ФМН-оксидоредуктаза обумовлено лише впливом розчинів поглиначів, що скоріше за все пов'язано з їхньою концентрацією та якісним складом.

Для усунення впливу розчинів поглиначів при подальшому аналізі проб застосовувався метод розведення. Для цього аналізовану пробу розбавляли дистильованою водою в кілька разів, поки не отримували залишкову інтенсивність світіння біферментної системи щодо контролю, що дорівнює 80 і більше відсотків. Даний метод застосовували для поглиначів, підготовлених для визначення концентрацій формальдегіду та NO_2 , оскільки в цих випадках залишкова інтенсивність свічення біферментної системи у присутності поглинача становила 50%.

Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи щодо контролю дорівнює 80 і більше відсотків для поглинача, підготовленого для визначення концентрації формальдегіду, отримана при розведенні останнього у 4 рази. Далі аналогічним чином розбавляли розчин поглинача з пробкою повітря і вимірювали активність біферментної системи бактерій. Залишкова інтенсивність світіння в цьому випадку склала 25 % (рис. 3).

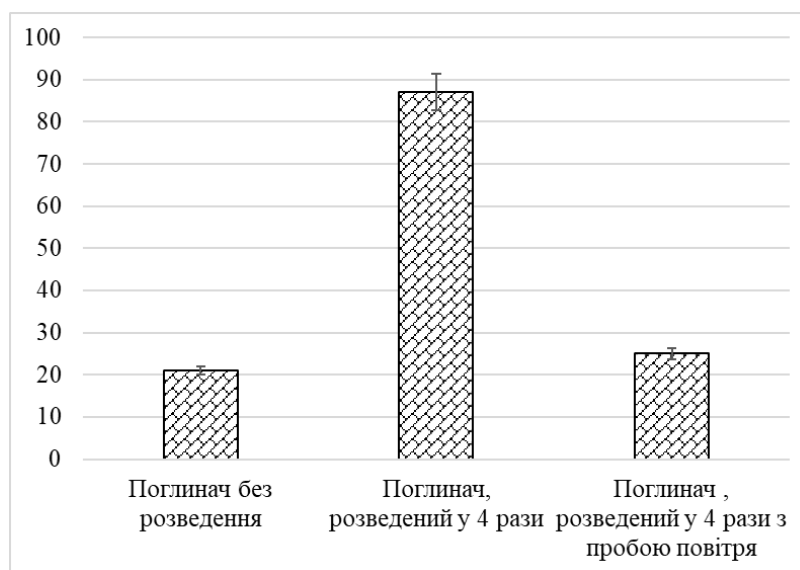


Рис. 3 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій при додаванні поглинача і поглинача з пробкою повітря, підготовлених для визначення формальдегіду (CH_2O).

При дослідженні концентрації NO_2 залишкову інтенсивність світіння біферментної системи щодо контролю, що дорівнює 80 і більше відсотків, отримали при розведенні поглинача також у 4 рази. Однак, при порівнянні залишкової інтенсивності світіння біферментної системи у присутності

поглинача та поглинача з пробою повітря, розведених у 4 рази вірогідних відмінностей не спостерігали (рис. 4).

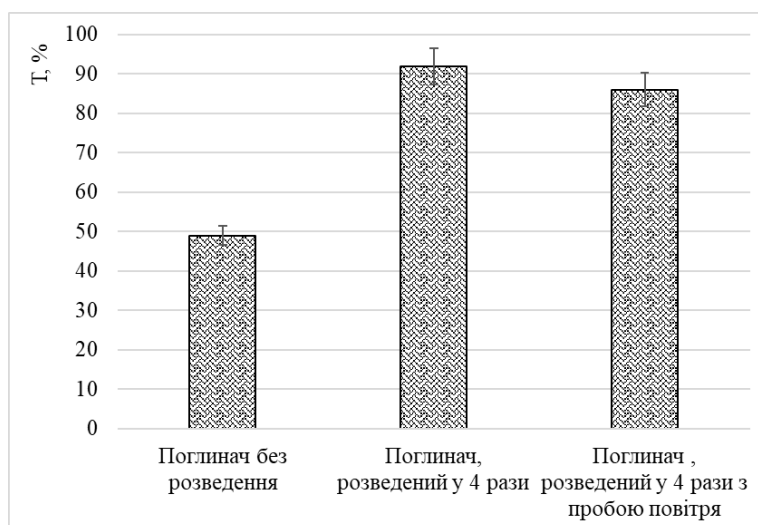


Рис. 4 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій при додаванні поглинача і поглинача з пробою повітря, підготовлених для визначення NO_2 .

Таким чином, не вдалося досягти одночасного зменшення впливу поглиначів на активність біоломінесцентної біферментної системи та збільшення чутливості системи до проб повітря.

Збільшення чутливості біферментної системи можливе шляхом зменшення кількості люциферази в реакційній суміші. Для експерименту були обрані проби, підготовлені для визначення HF , так як в цьому випадку залишкове світіння біферментної системи в присутності і поглиначами поглинача з пробою повітря склало вище 80% (рис.1). у реакційній суміші від 0,3 мкг до 0,5 мкг. Однак, в результаті експерименту показано, що зменшення кількості люциферази в реакційній суміші не вплинуло на чутливість біферментної системи до аналізованих проб. Інтенсивність світіння системи, як у присутності поглинача, і у присутності поглинача з пробою повітря була однаковою (рис. 5).

Отже, на підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що використання біоломінесцентного методу для аналізу проб повітря, відібраних за допомогою сорбційних трубок, неможливе.

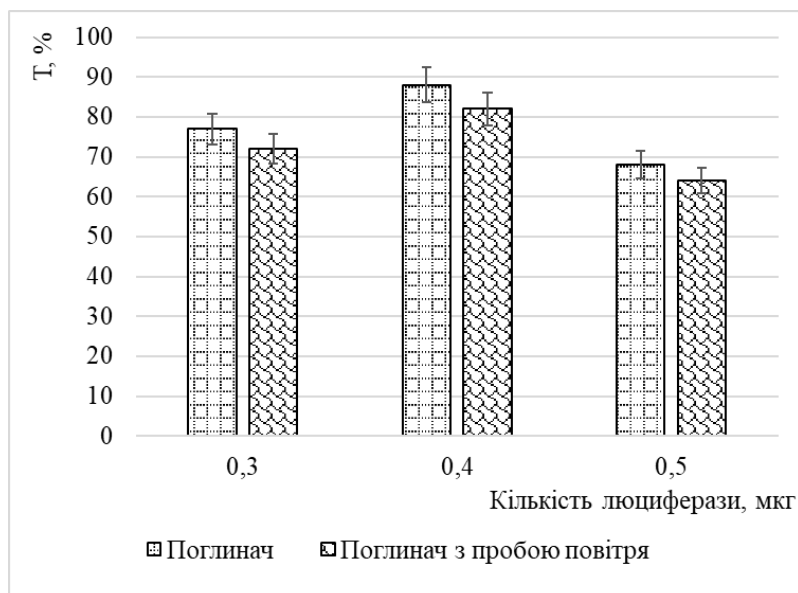


Рис. 5 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій, у присутності поглинача та поглинача з пробєю повітря, підготовлених для визначення НФ.

3.2 Вплив проб повітря, відібраних за допомогою медичних шприців, на активність біферментної системи біоломінесцентних бактерій

У зв'язку з тим, що відбір повітря за допомогою сорбційних трубок не підходить для біоломінесцентного аналізу, оскільки використовуються складні рецепти поглиначів, була розглянута можливість застосування для пробовідбору таких засобів як медичні шприци.

Використання медичного шприца дозволяє легко відібрати повітря в будь-якому місці і барботувати його безпосередньо в реакційну суміш біоломінесцентної біферментної системи, або дистильовану воду для подальшого її аналізу біоломінесцентним методом.

У цьому експерименті використовували медичні шприци об'ємом 60 мл. Досліджували проби умовно чистого повітря (повітря, відібране в парковій зоні) та умовно брудного повітря (повітря, відібране на відстані 20 см від вихлопної труби, працюючого транспортного засобу).

Проби повітря різного об'єму барботували в 1 мл дистильованої води, потім проводили біоломінесцентний аналіз при додаванні реакційну суміш 50

мкл досліджуваного розчину.

Як видно з рисунку 6 відмінностей залишкового світіння біферментної системи у присутності проб умовно чистого та брудного повітря не спостерігалось. Крім того залишкова інтенсивність світіння не залежала від обсягу відібраного та барботованого повітря. В даному експерименті спостерігалася однакова чутливість біферментної системи біолюмінесцентних бактерій, до проб умовно чистого і забрудненого повітря.

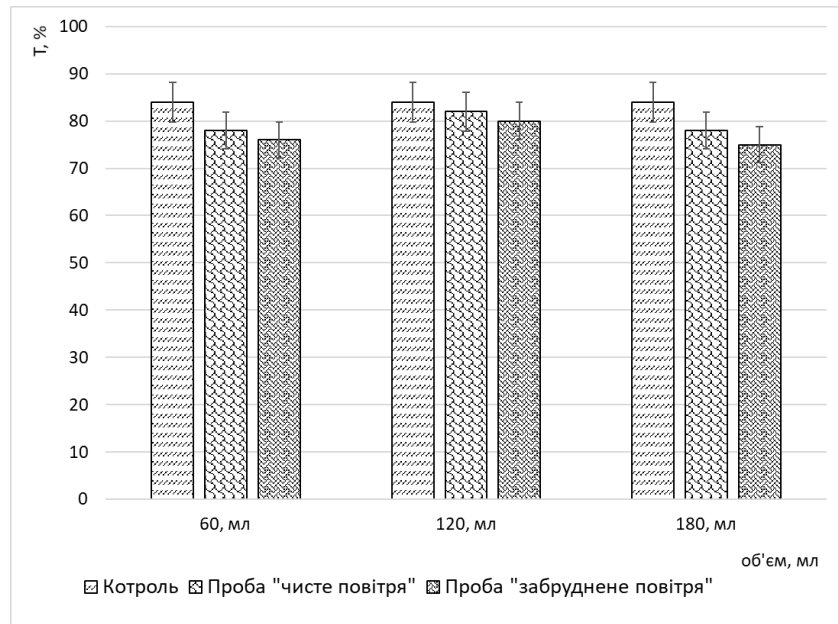


Рис. 6 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій, при додаванні в реакційну суміш 50 мкл дистильованої води з барботованими пробами повітря різного об'єму.

Також проби умовно чистого повітря та умовно брудного повітря різного об'єму барботували безпосередньо в реакційну суміш. Достовірних відмінностей залишкового світіння біферментної системи при барботуванні реакційної суміші пробами умовно чистого повітря та умовно брудного повітря не виявлено, за винятком барботування об'ємом повітря 20 мл (рис.7).

Незважаючи на те, що цей спосіб пробовідбору може бути застосований для аналізу повітряного середовища біолюмінесцентним методом шляхом барботування повітря безпосередньо в реакційну суміш, цей спосіб пробовідбору є технічно незручним і може призвести до збільшення похибки вимірювань.

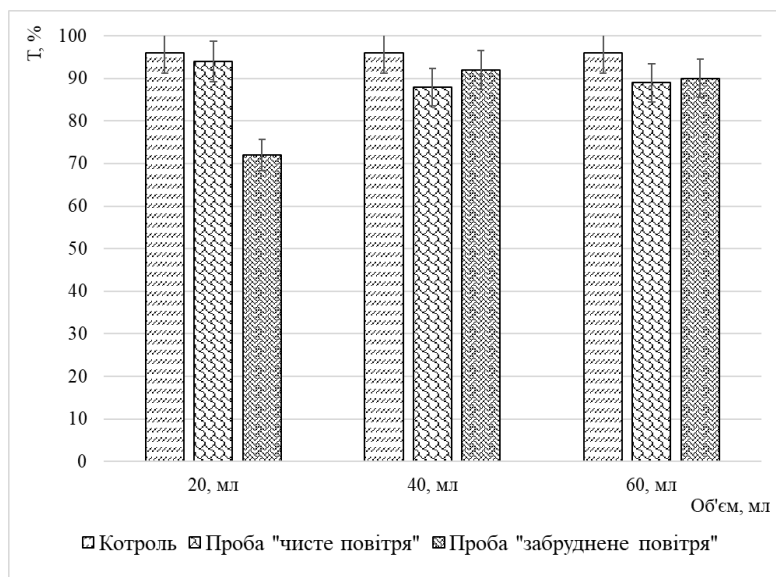


Рис. 7 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій, при барботуванні реакційної суміші пробами повітря різного об'єму.

3.3. Вплив проб повітря, відібраних за допомогою аспіратора та судин Ріхтера на активність біферментної системи бактерій

Відбір проб повітря здійснювали за допомогою аспіратора та судин Ріхтера. Для відбору проб були обрано такі поглиначі: вода дистильована, ацетон 95%, спирт етиловий 96%. Місцем відбору проб були обрані райони м. Одеса: паркова зона (парк Перемоги), вул. Канатна 112, площа Толбухіна. Метеорологічні умови у дні відбору проб були сприятливими.

Визначали максимальний обсяг поглиначя, який при додаванні реакційну суміш не впливатиме на активність біферментної системи, тобто. залишкова інтенсивність світіння становить що найменше 80 % (рис. 8).

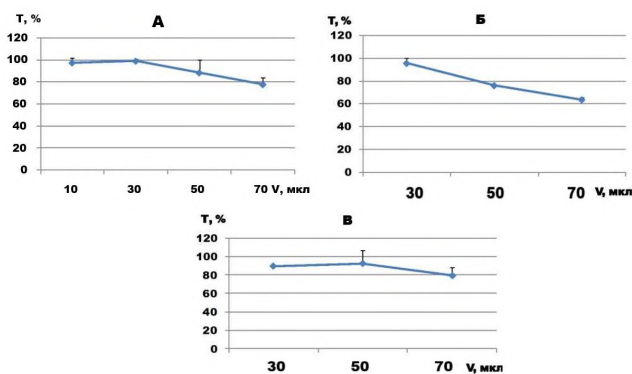


Рис. 8 – Залежність залишкової інтенсивності світіння біферментної системи бактерій від об'єму поглиначя, що додається в реакційну суміш: де А)

дистильована вода, Б) ацетон 95 %, В) спирт етиловий 96%.

Доведено, що оптимальний обсяг поглинача, що додається в реакційну суміш і не впливає на активність біферментної системи більш ніж на 20%, становить: 50 мкл для дистильованої води, 30 мкл для ацетону 95%, 50 мкл для спирту етилового. Зазначені обсяги поглиначів використовували для контрольного вимірювання інтенсивності світіння біферментної системи.

Далі досліджували відібрану пробу повітря, на біферментну систему, залежно від обсягу повітря, аспіровану у відповідний поглинач (рис. 9).

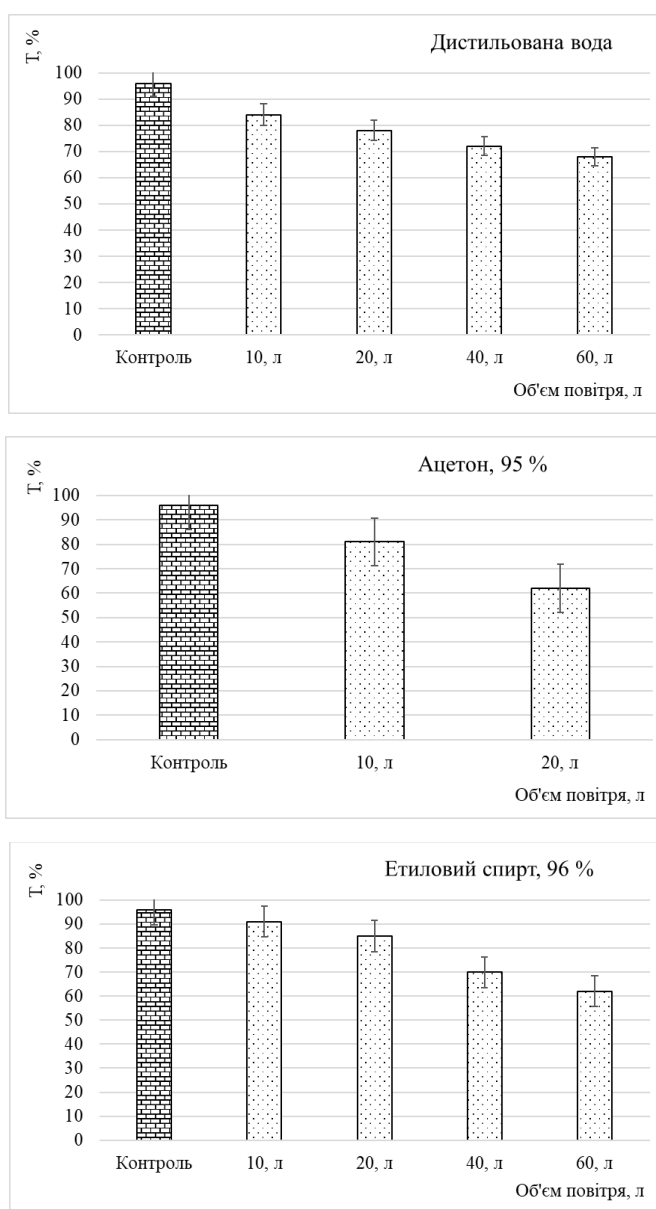


Рис. 9 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій, у присутності поглиначів з аспірованими пробами повітря різного об'єму: дистильована вода; ацетон 95%; спирт етиловий 96%.

У результаті проведення експерименту, було доведено, що при збільшенні об'єму повітря, що аспірується, для всіх трьох поглиначів спостерігається тенденція зменшення залишкової інтенсивності світіння біферментної системи бактерій. Так, за умовим використання ацетону як поглинача, максимальний обсяг повітря, що відбирається, склав 20 літрів, при цьому залишкова інтенсивність світіння біферментної системи склала 60 %. Подальше збільшення об'єму повітря, що аспірується, а відповідно збільшення часу пробовідбору призводило до повного випаровування ацетону.

При використанні дистильованої води як поглинача, залишкова інтенсивність світіння склала 68 % при об'ємі аспірованого повітря 60 літрів, у разі етилового спирту 62 % при об'ємі повітря відбирається 60 літрів.

Наступним етапом в експерименті був відбір проб повітря на основі отриманих результатів для трьох поглиначів (дистильована вода, спирт етиловий 96%, ацетон 95%), у трьох різних точках міста Одеси (рис. 10).

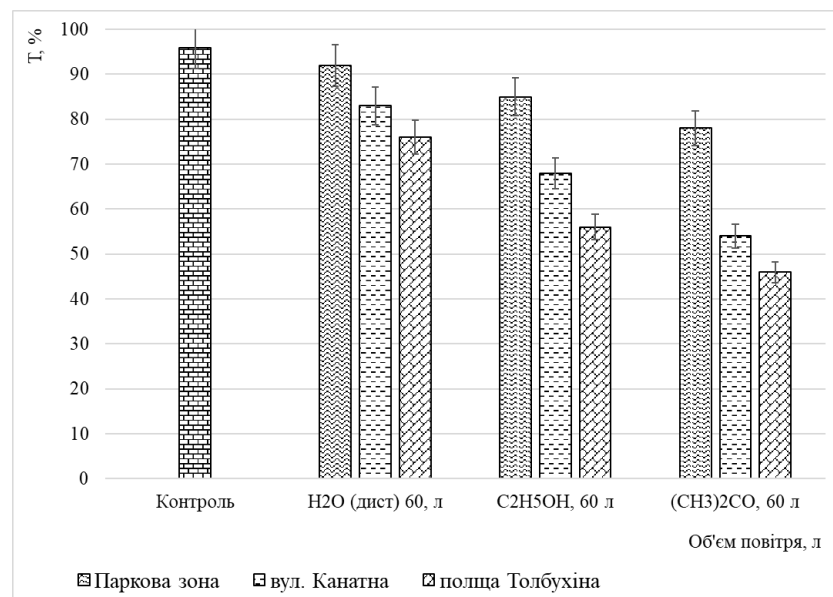


Рис. 10 – Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій в присутності різних поглиначів з аспірованими пробами повітря в трьох точках м. Одеси.

Як видно з рисунка 10 при використанні дистильованої води як поглинача у всіх трьох точках, залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій, що світяться, знаходилася в межах норми і становила від 92 % до 76%.

При використанні як поглинача етилового спирту 96 %, залишкова інтенсивність світіння біферментної системи становила: для проб повітря відібраних у першому пункті 85 % (парк Перемоги), у другому (вул. Канатна) – 68 %, у третьому (площа Толбухіна) - 56%.

У разі використання в якості поглинача ацетону 96%, чутливість біферментної системи бактерій, вище, ніж при використанні інших поглиначів: у першій точці залишкова інтенсивність світіння склала – 78%, у другій – 54 %, у третій – 46%. Так, найменша залишкова інтенсивність світіння біферментної системи спостерігалася для проби повітря, відібраної в явно «брудній» зоні міста Одеси, в районі площі Толбухіна. Отриманий результат можна пояснити тим, що розчинність деяких забруднюючих речовин, що містяться в атмосферному повітрі (наприклад, вихлопних газів), вища в ацетоні, ніж у спирті та дистильованій воді.

Отже, отримані результати дослідження свідчать про можливість застосування біолюмінесцентних платформних технологій на основі біферментної системи бактерій, для комплексної оцінки забруднення повітря.

Оптимальним способом пробовідбору атмосферного повітря з метою використання біолюмінесцентного аналізу для контролю якості атмосферного повітря є відбір проб за допомогою переносного аспіратора та судин Ріхтера.

У результаті проведених експериментів було підібрано умови пробовідбору, що забезпечують чутливість біферментної системи біолюмінесцентних бактерій, до проб повітря. Мінімальний обсяг повітря, що аспірується, повинен становити 60 л для поглиначів: дистильована вода, спирт етиловий; для ацетону – 20 л. Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи склала 76 %, 56 % та 46 % відповідно.

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ

4.1. Аналіз потенційно небезпечних та шкідливих факторів

В лабораторії проведено аналіз потенційно небезпечних і шкідливих виробничих факторів (ПН і ШВФ), що діють при проведенні цієї роботи.

До *фізичних факторів* в лабораторії належать:

- підвищена загазованість повітря робочої зони (можливе виділення газів при змішуванні різних речовин);
- підвищена температура поверхні обладнання (термостат, водяна баня, спиртівка);
- підвищена температура повітря робочої зони (горіння спиртівки, водяна баня);
- підвищена вологість повітря (водяна баня);
- понижена рухомість повітря (лаборант майже весь час знаходиться на одному й тому ж місці);
- підвищене значення напруги в електричній мережі, замикання якої може відбутися через тіло людини (термостат, водяна баня);
- гострий край, задирка та жорсткість на поверхні інструментів, обладнання (скляні колби, лабораторні циліндри, бюретки, піпетки).

Хімічні фактори:

- подразнюючі (кислоти, луги);
- токсичні (гідроарсенат натрію).

Біологічні фактори :

- грибки і бактерії на обладнанні та руках лаборанта;

Психофізичні фактори :

- фізичне навантаження (статичне - довготривале положення тіла в одній і тій же позі);
- нервово-психічні перенапруги (монотонність праці).

Дія на людину шкідливого чинника протягом зміни може побічно

привести до травми. *Наприклад*, монотонна праця через повторюваності одноманітних операцій супроводжується швидко наступаючим стомленням, що призводить до зниження працездатності і притуплення уваги. Через те, що вся робота здійснюється стоячи, у працівників розвиваються так звані професійні захворювання, такі як варикозне розширення вен і плоскостопість.

4.2. Вимоги до охорони праці при організації робочого місця працівника

Лабораторія повинна бути:

- обладнана центральним водяним опаленням;
- забезпечена питною водою;
- мати загальну припливно-витяжну вентиляцію та місцеву витяжку

повітря на окремих технологічних ділянках (раковини для миття, витяжні та сушильні шафи, апаратуру з потужними джерелами світла, столи для знепилювання тощо) згідно з СНіП 2.04.05-91;

- забезпечені протипожежним обладнанням згідно з НАПБ Б. 01.006-2003.

- необхідно підтримувати умови мікроклімату, норми освітленості, шуму та вібрації відповідно до чинних гігієнічних вимог.

Лабораторне устаткування, робочі поверхні столів, стелажів, витяжних шаф, що призначені для роботи з пожежовибухонебезпечними речовинами, повинні мати негорюче покриття.

На робочих місцях треба зберігати тільки таку кількість матеріалів (у готовому для користування стані), яка не перевищує денної виробничої потреби. При цьому ємності з вогнебезпечними речовинами повинні бути щільно закритими.

Для роботи з кислотами, лугами та іншими хімічно активними речовинами слід застосовувати столи й шафи, виготовлені з матеріалів, стійких до їхньої дії.

До роботи зі шкідливими речовинами допускаються особи не молодші 18

років, які пройшли медичний огляд та інструктаж з охорони праці.

Під час роботи з хімічними речовинами необхідно користуватися халатами, гумовими рукавичками, захисними окулярами, респіраторами тощо.

Працівники лабораторій повинні знати властивості пожежовибухонебезпечних хімічних речовин і матеріалів, що застосовуються, і дотримуватися заходів безпеки під час роботи з ними.

4.3. Забезпечення нормативних значень показників мікроклімату і чистоти повітря.

Несприятливі умови погіршують фізіологічний стан, знижують продуктивність праці, можуть привести до різних захворювань.

Робота в лабораторії відноситься до категорії легкої важкості (1б). Температура в холодний період року повинна 21 – 23 °С, відносна вологість - не більше 75%, швидкість руху повітря – 0,2 м/с, а в теплий період року відповідно 22-24°С, не більше 60%, 0,1 – 0,3 м/с .

Для забезпечення нормативних показників мікроклімату передбачено:

– опалювальна система, яка забезпечує допустимі показники мікроклімату. Одним з чинників, що роблять найбільший вплив на організм працюючих є низька температура. Для того, щоб лабораторія працювала в холодну пору року передбачається опалювальна система. Оптимальні величини температури 21-23°С.

– для видалення надмірного тепла, шкідливих газів, водяної пари і пилу передбачена приточно - витяжна вентиляція. Вентиляція підрозділяється на природну і примусову. В лабораторії в якості загально-обмінної вентиляції використовують природну. Природна витяжна вентиляція застосовується в приміщеннях, які мають значні виділення тепла, і здійснюється за допомогою вентиляційних каналів, вікон.

4.4. Освітлення робочого місця, заходи і засоби для забезпечення нормованих показників освітлення.

Для забезпечення нормативної освітленості передбачено природне, штучне та змішане освітлення.

Природне освітлення:

- Передбачено природне освітлення бокове, здійснюване через світлові прорізи в зовнішніх стінах; верхнє - через лампи, комбіноване - поєднання верхнього і бічного природного освітлення.

- Для ефективного використання світлового потоку приміщення та обладнання забарвлене в світлий колір

- Для нормального проходження світлового потоку через вікна вони повинні бути вимиті один раз на місяць в санітарний день.

Штучне освітлення:

Штучне освітлення здійснюється за допомогою люмінісцентних ламп в кількості 6 штук. Природне освітлення - бічне трьохстороннє. Місцеве освітлення робочої зони відсутнє, що погано впливає на якість виконання роботи. Згідно з нормами рівня штучного освітлення для зони обслуговування розмножувальної техніки різних видів відповідають такі показники:

Площину нормування освітленості - М - 0,8 м від підлоги;

Розряд зорових робіт - 3 В;

Загальне освітлення - 300 ЛК.

Для зручності передбачені штори.

Згідно ДБН В.2.5-28-2006: характеристика зорової роботи високої точності, розряд зорової роботи – В, КПО – 3 %.

Підтримка освітлення у чистому виді забезпечується очищенням (миттям) віконних блоків не менше 2 разів на рік.

Відповідно до ДНАОП 0.00-1.32.01 відносно небезпеки поразки людей електричним струмом приміщення відноситься до приміщень без підвищеної небезпеки, у яких відсутні умови, що створюють підвищену або особливу небезпеку.

4.5. Заходи і засоби для забезпечення нормованих значень шуму та вібрації.

Джерелом шуму в лабораторії є: - шум від ламп, шум, що утворюється під час роботи водяної бані.

Заходи, щодо захисту від дії вібрації поділяють на технічні, організаційні та лікувально-профілактичні. Також вони можуть бути розподілені як колективні та індивідуальні.

До технічних заходів відносять:

- зменшення вібрації в джерелі її виникнення полягає у виборі таких кінематичних і технологічних схем, при яких процеси, що викликані ударами, різкими прискореннями виключаються (заміна кулачкових і кривошипних механізмів гідроприводами, штампування – пресуванням тощо);

- вібродемпфування зводиться до перетворення механічної коливальної енергії в теплову. Досягається за рахунок використання конструкційних матеріалів з великим внутрішнім тертям (пластмаси, гума), нанесенням на вібруючі поверхні шару пружнов'язких матеріалів (мастики, пінопласт, пластикат тощо);

- віброгасіння – вібруюче обладнання встановлюється на масивні фундаменти. Масу фундаменту підбирають таким чином, щоб амплітуда коливань підшви фундаменту не перевищувала 0,1...0,2 мм, а для особливо точного обладнання – 0,005 мм;

- віброізоляція полягає в зменшенні передачі коливань від джерела вібрації до об'єкту, що захищається. Це досягається введенням в систему пружного елемента (віброізолятори, амортизатори, пружні каретки тощо).

Пружні елементи, що вводяться в коливальну систему можуть бути: пружинними; гумово-металевими; гумовими з ребристої або дірчастої гуми.

4.6. Забезпечення необхідного санітарного стану лабораторії

Необхідний санітарний стан лабораторії досягається застосуванням наступних основних заходів і засобів:

- миття і профілактична дезінфекція лабораторії, обладнання, інвентаря здійснюється за допомогою хлорного вапна, хлораміда Б, гіпохлорида кальцію, дезінсекція та дератизація;
- механічне очищення інвентаря;
- використання сіток на віконних отворах, липкого паперу для захисту від комах;
- зачинення отворів вентиляційних каналів захисними сітками;
- регулярне проходження працюючим персоналом медичних обстежень (один раз на рік);
- дотримання особистої гігієни лаборантами, а саме: використання спеціального одягу, взуття та засобів індивідуального захисту тобто білого халату, шапочки або косинки, нарукавників, респіраторів і т.д., систематичного догляду за шкірою рук та інші.

4.7. Заходи і засоби для захисту працюючих від ураження електричним струмом.

Відповідно до ДНАОП 0.00-1.32.01 відносно небезпеки поразки людей електричним струмом лабораторія відноситься до приміщень без підвищеної небезпеки, у якому відсутні умови, що створюють підвищену або особливу небезпеку[36].

Основними мірами по захисту від ураження електричним струмом в лабораторії є:

- забезпечення недоступності струмоведучих частин для випадкового доторкання;
- використання ізоляції струмоведучих частин;
- використання методів колективного захисту від ураження електричним струмом: захисного заземлення, занулення та автоматичного відключення;
- періодична перевірка опору заземлення;
- контроль та профілактика пошкоджень ізоляції.

4.8. Забезпечення пожежовибухової безпеки

Категорії приміщень лабораторій відносяться за пожежною, вибухо-пожежною та вибуховою небезпечністю до категорії В - Горючі гази (ГГ), легкозаймисті, горючі і важкогорючі рідини, а також речовини та матеріали, які здатні при взаємодії з водою, киснем повітря або один з одним вибухати і горіти або тільки горіти; горючий пи́л і волокна, тверді горючі та важкогорючі речовини і матеріали, за умови, що приміщення, в яких вони знаходяться (обертаються), не відносяться до категорій А, Б і питома пожежна навантага для твердих і рідких легкозаймистих та горючих речовин на окремих ділянках і площею не менше 10 м² кожна перевищує 180 МДж/м².

В лабораторії можуть виникнути такі класи пожеж :

- Клас А – пожежі твердих речовин, головним чином органічного походження, горіння яких супроводжується тлінням (деревина, текстиль, папір);
- клас В – пожежі горючих рідин або твердих речовин, що плавляться.
- клас (Е)* – пожежі, що пов'язані із горінням електроустановок.

Враховуючи класи пожеж та площу нашої лабораторії необхідно використовувати порошкові вогнегасники в кількості 2 штуки по 5 кг, або вуглекислотні вогнегасники в такій же кількості, (згідно з Типовими нормами належності вогнегасників НАПБ Б.03.001-2004).

Місце розміщення первинних засобів пожежогасіння зазначено в плані евакуації. На пожежному щиті розміщено вогнегасник, лом, вогнетривке покривало, напис з телефоном пожежної охорони і прізвище посадових осіб, відповідальних за пожежну безпеку. Стенд розміщений біля виходу з приміщення .

РОЗДІЛ 5

ЦИВІЛЬНИЙ ЗАХИСТ

Відповідно до законодавства, громадяни України мають право на захист свого життя і здоров'я від наслідків аварій, пожеж, стихійних лих і на вимогу від Уряду України, інших органів державної виконавчої влади, адміністрацій підприємств, установ і організацій незалежно від форм власності і господарювання гарантій щодо забезпечення його реалізації. Держава як гарант цього права здійснює захист населення від небезпечних наслідків аварій і катастроф техногенного, екологічного, природного та воєнного характеру [49].

Цивільний захист населення (ЦЗН) – система організаційних, інженерно – технічних, санітарно – гігієнічних, протиепідемічних та інших заходів центральних і місцевих органів виконавчої влади, органів місцевого самоврядування, підпорядкованих їм сил і засобів, підприємств, установ і організацій незалежно від форм власності, добровільних рятувальних формувань з метою запобігання і ліквідації надзвичайних ситуацій [49].

Балони із киснем використовуються в лабораторії для проведення певних експериментів, що потребують інколи спеціальних умов навколишнього середовища. На території лабораторії відбулася умовна аварія. Вибухнув балон із киснем літражем = 40Л (одиначне зберігання). Визначити характер руйнування лабораторії при надзвичайній ситуації. Балон із киснем знаходиться на відстані $R_{об} = 600$ м від лабораторії.

Розрахунки:

1. Радіус зони детонаційної (бризантної) дії вибуху R_1 , що визначається за формулою:

$$R_1 = 17,5 \sqrt[3]{M} \quad (6.1)$$

де R_1 – радіус зони детонаційної (бризантної) дії вибуху, м;

Так як 40 літрів можна перевести через коефіцієнт щільності у масу, для розрахунків буде враховуватися маса 57 т кисню в балоні.

M – маса ГПС, ППС у резервуарі, кг. За M приймається 50 % вмісту

резервуара при одиночному збереженні і 90 % – при груповому. В випадку із завданням, балон із киснем тільки один, тому М приймаємо за 50%.

$$R_1 = 17,5 \sqrt[3]{0,5 * 57} = 53,4 \text{ м}$$

2. Радіус зони дії продуктів вибуху (осколків) R2 об'ємного вибуху розраховуємо за формулою:

$$R_2 = 1,7 \cdot R_1, \quad (6.2)$$

де R2 – радіус зони дії продуктів вибуху (осколків), м;

$$R_2 = 1,7 \cdot 53,4 = 90,78 \text{ м}$$

3. Надмірний тиск ΔP_ϕ у зоні розльоту продуктів вибуху дорівнює:

$$\Delta P_\phi = 1300 \cdot \left(\frac{R_1}{R_{об}} \right)^3 + 50, \quad (6.3)$$

де – надмірний тиск у зоні розльоту продуктів вибуху, кПа;

$R_{об}$ – відстань від центру вибуху до об'єкта, м.

$$\Delta P_\phi = 1300 \cdot \left(\frac{90,78}{600} \right)^3 + 50 = 54,50 \text{ кПа}$$

4. Радіус дії R3 ударної хвилі визначається в залежності від формули:

$$R_3 = 12 * R_1, \quad (6.4)$$

де R3 – радіус дії ударної хвилі, м;

$$R_3 = 12 * 90,78 = 1089 \text{ м}$$

5. Надмірний тиск ΔP_{yx} у зоні дії повітряної ударної хвилі обчислюється за формулою

$$\Delta P_{yx} = \frac{233}{\sqrt{1 + 0,41 \left(\frac{R_{об}}{R_1} \right)^3 - 1}}, \quad (6.5)$$

де – надмірний тиск у зоні дії повітряної ударної хвилі, кПа.

$$\Delta P_{yx} = \frac{233}{\sqrt{1 + 0,41 \left(\frac{600}{90,78} \right)^3 - 1}} = 21,41 \text{ кПа}$$

Висновок. Дивлячись на розрахунки, надмірний тиск у зоні дії повітряної ударної хвилі = 21,41 кПа – ступінь руйнування об'єкту слабкий.

ВИСНОВКИ

1. Нині сумарний рівень забруднення повітря у великих та середніх містах України у 2–4 рази перевищує гранично допустимий рівень і є небезпечним для здоров'я населення; спостерігаються тенденції до зростання рівня забруднення атмосферного повітря міст. Список екологічно найбільш неблагополучних міст країни у 2021 р. нараховував понад 80 поселень, і в нього входили майже 80% загальної кількості великих міст. Причинами надмірних викидів забруднюючих речовин в атмосферне повітря є: робота підприємств в умовах зношеності основних фондів, недосконалості технологічних процесів базових галузей промисловості, недостатня забезпеченість останніх очисними спорудами для уловлювання та утилізації забруднюючих речовин, введення в дію нових підприємств. Підвищення ефективності контролю за станом атмосферного повітря може бути досягнуто через збільшення продуктивності, оперативності та регулярності вимірів, збільшенням масштабності охоплення одночасним контролем; автоматизацією та оптимізацією технічних засобів контролю та самого процесу.

2. Засоби екологічного спостереження та контролю поділяються на контактні, неконтактні (дистанційні), біологічні, а контрольовані показники – на функціональні (продуктивність, оцінка кругообігу речовин та ін.) та структурні (абсолютні або відносні значення фізичних, хімічних чи біологічних параметрів – концентрація забруднюючої речовини, коефіцієнт сумарного забруднення та ін.). Найбільш інформативними є структурні контрольні показники, тому що вони дають безпосередню інформацію про об'єкт навколишнього середовища, яка була забруднена, а також всю необхідну інформацію про забруднювачі (концентрація забруднюючої речовини, різні коефіцієнти забруднення, рівень і ступінь забруднення і т.д.).

3. Ефективними методами екологічного контролю на сьогоднішній день є біологічні методи – біоіндикація та біотестування (біотоксикологія). Методи біоіндикації засновані на спостереженнях окремих організмів, популяції або

угруповань організмів у природному середовищі проживання з метою визначення за їх реакціями (змінami) якості навколишнього середовища. За допомогою методів біоіндикації можна досліджувати забруднення навколишнього середовища, що вже відбулося або відбувається, забруднюючими речовинами. Однак, розробка єдиної системи показників токсичності речовин для довкілля дуже трудомістка. Біоіндикатори не можуть бути універсальними, їх необхідно підбирати для кожного середовища самостійно, виходячи з властивостей цього середовища. Як об'єкти біотестування застосовуються різноманітні організми – бактерії, водорості, вищі рослини, п'явки, молюски, риби та ін. Кожен із організмів має свої переваги, але жоден організм не може служити універсальним об'єктом. Реалізація цього завдання неможлива без використання методів біоіндикації з метою діагностики якості навколишнього середовища. Вивчення біоіндикаційних властивостей окремих видів дозволить встановити наявні зміни якості довкілля. Прогностична функція біоіндикаційних методів в цьому контексті є вкрай затребуваною завдяки уможливленню ефективних управлінських рішень і заходів щодо зниження величини техногенного навантаження

4. Сьогодні багато країн переходять на ферментативну систему оцінки якості довкілля, оскільки ця система дозволяє безпосередньо виявити вплив шкідливих речовин на організми чи визначити яку частину організму вони мають більший вплив. Одним із таких методів є біолюмінесцентний. Перевага біолюмінесцентного методу полягає в тому, що свічення можна легко та точно зареєструвати на відміну від інших тест-параметрів, що використовуються в біотестуванні (летальний результат, швидкість росту, інтенсивність дихання, флуоресценція хлорофілу тощо). В основі світіння всіх живих організмів лежить хемілюмінесцентний процес перетворення енергії, в якому беруть участь специфічні ферменти – люциферази, органічні молекули – люциферини та кисень.

5. За сучасною класифікацією біолюмінесцентні бактерії належать до

родів *Photobacterium*, *Vibrio*, *Lucibacterium*. Люмінесцентними видами роду *Photobacterium* є: *P. phosphoreum* та *P. leiognathi*. Люмінесцентними видами роду *Vibrio* є: *V. fischeri*, *V. logei*, *V. harveyi*, *V. Splendida*. На даний момент розроблено та впроваджено безліч інтегральних біолюмінесцентних методів *in vivo* та *in vitro* для безперервного експрес-контролю стану навколишнього середовища в промислових районах та природно-господарських комплексах. За допомогою таких експрес-методів контролюють залпові викиди шкідливих речовин підприємствами, оцінюють ефективність детоксикації стічних вод та роботу очисних споруд, а також оцінюють екологічну небезпеку підприємств та окремих районів.

6. Вплив проб повітря, відібраних за допомогою сорбційних трубок в поглинач на активність біферментної системи НАДН:ФМН-оксидоредуктаза обумовлено лише впливом розчинів поглиначів, що скоріше за все пов'язано з їхньою концентрацією та якісним складом. Так, для досліджуваних розчинів, підготовлених для визначення вмісту в атмосферному повітрі SO_2 , NO , HF , CH_2O , HCl , достовірних відмінностей активності біолюмінесцентної біферментної системи у поглинач та поглинач з пробкою відібраного повітря не спостерігалось. Виняток склали проби визначення NO_2 . У цьому випадку залишкова інтенсивність світіння біферментної системи поглинач з пробкою відібраного повітря склав 15%, у той час як залишкова інтенсивність світіння в присутності тільки поглинача склала 50%. На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що використання біолюмінесцентного методу для аналізу проб повітря, відібраних за допомогою сорбційних трубок, неможливе.

7. У зв'язку з тим, що відбір повітря за допомогою сорбційних трубок не підходить для біолюмінесцентного аналізу, оскільки використовуються складні рецепти поглиначів, була розглянута можливість застосування для пробовідбору таких засобів як медичні шприци. Однак, відмінностей залишкового світіння біферментної системи у присутності проб умовно чистого та брудного повітря не спостерігалось. Крім того залишкова інтенсивність світіння не залежала від обсягу відібраного та барботованого

повітря. В даному експерименті спостерігалася однакова чутливість біферментної системи біоломінесцентних бактерій, до проб умовно чистого і забрудненого повітря. Незважаючи на те, що цей спосіб пробовідбору може бути застосований для аналізу повітряного середовища біоломінесцентним методом шляхом барботування повітря безпосередньо в реакційну суміш, цей спосіб пробовідбору є технічно незручним і може призвести до збільшення похибки вимірювань.

8. На наступному етапі експерименту відбір проб повітря здійснювали за допомогою аспіратора та судин Ріхтера. Для відбору проб були обрано такі поглиначі: вода дистильована, ацетон 95%, спирт етиловий 96%. У результаті проведення експерименту, було доведено, що при збільшенні об'єму повітря, що аспірується, для всіх трьох поглиначів спостерігається тенденція зменшення залишкової інтенсивності світіння біферментної системи бактерій. Так, за умовим використання ацетону як поглинача, максимальний обсяг повітря, що відбирається, склав 20 літрів, при цьому залишкова інтенсивність світіння біферментної системи склала 60 %. При використанні дистильованої води як поглинача, залишкова інтенсивність світіння склала 68 % при об'ємі аспірованого повітря 60 літрів, у разі етилового спирту 62 % при об'ємі повітря відбирається 60 літрів.

9. Наступним етапом в експерименті був відбір проб повітря на основі отриманих результатів для трьох поглиначів (дистильована вода, спирт етиловий 96%, ацетон 95%), у трьох різних точках міста Одеси. При використанні дистильованої води як поглинача у всіх трьох точках, залишкова інтенсивність світіння біферментної системи бактерій, знаходилася в межах від 92 % до 76%. При використанні як поглинача етилового спирту 96 %, залишкова інтенсивність світіння біферментної системи становила: для проб повітря відібраних у першому пункті 85 % (парк Перемоги), у другому (вул. Канатна) – 68 %, у третьому (площа Толбухіна) – 56%. У разі використання в якості поглинача ацетону 96%, чутливість біферментної системи бактерій, вище, ніж при використанні інших поглиначів: у першій точці залишкова

інтенсивність світіння складала – 78%, у другій – 54 %, у третій – 46%. Так, найменша залишкова інтенсивність світіння біферментної системи спостерігалася для проби повітря, відібраної в явно «брудній» зоні міста Одеси, в районі площі Толбухіна. Отриманий результат можна пояснити тим, що розчинність деяких забруднюючих речовин, що містяться в атмосферному повітрі (наприклад, вихлопних газів), вища в ацетоні, ніж у спирті та дистильованій воді.

10. Отримані результати дослідження свідчать про можливість застосування біolumінесцентних платформних технологій на основі біферментної системи бактерій, для комплексної оцінки забруднення повітря. Оптимальним способом пробовідбору атмосферного повітря з метою використання біolumінесцентного аналізу для контролю якості атмосферного повітря є відбір проб за допомогою переносного аспіратора та судин Ріхтера. У результаті проведених експериментів було підібрано умови пробовідбору, що забезпечують чутливість біферментної системи біolumінесцентних бактерій, до проб повітря. Мінімальний обсяг повітря, що аспірується, повинен становити 60 л для поглиначів: дистильована вода, спирт етиловий; для ацетону – 20 л. Залишкова інтенсивність світіння біферментної системи складає 76 %, 56 % та 46 % відповідно.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Branco P.T.B.S., Alvim-Ferraz M.C.M., Martins F.G., Sousa S.I.V. The microenvironmental modelling approach to assess children's exposure to air pollution. *Environmental Research*, 2014. №135. P.317 – 332.
2. Rich D. Q. Accountability studies of air pollution and health effects: lessons learned and recommendations for future natural experiment opportunities. *Environment International*. 2017. № 100. P. 62 – 78.
3. Davalos A. D., Luben T. J., Herring A. H., Sacks J. D. Current approaches used in epidemiologic studies to examine short-term multipollutant air pollution exposures. *Annals of Epidemiology*. 2017. № 27. P. 145 – 153.
4. Цілі сталого розвитку. Добровільний національний огляд. Київ : Департамент стратегічного планування та макроекономічного прогнозування. 2020. 117 с.
5. Клименко М. О., Прищепя А. М., Вознюк Н. М. Моніторинг довкілля: підручник. Київ.: Академія, 2006. 360 с.
6. Лялюк О. Г., Ратушняк Г. С. Моніторинг довкілля: навчальний посібник. Вінниця: ВНТУ, 2004. 140 с.
7. Керівні нормативні документи (КНД 211.0.1.101-02) «Положення про порядок інформаційної взаємодії органів Мінекоресурсів України та інших суб'єктів системи моніторингу довкілля при здійсненні режимних спостережень за станом довкілля» / Варламов Є. М., Єрмоленко Ю. В., Юрченко Л. Л., Шпаківський Р. В. Київ : Мінекоресурсів, 2002. 11 с.
8. Керівні нормативні документи (КНД 211.0.6.102-02) «Номенклатура та позначення структурних елементів Державної системи моніторингу довкілля» / Варламов Є.М., Єрмоленко Ю.В., Юрченко Л.Л., Шпаківський Р.В. Київ : Мінекоресурсів, 2002. 14 с.
9. Mackenzie L. Davis, David A. Cornwell. Introduction to environmental engineering. New York : The McGraw-Hill Companies. 2013 P. 578 – 700.

10. Biological Control: Methods, Applications and Challenges (Agriculture Issues and Policies). Nova Science Pub Inc. 2017 150 p.
11. Barr DB. Biological Monitoring: Theory and Applications – Bioindicators and Biomarkers for Environmental Quality and Human Exposure Assessment. Boston : WIT Press. 2008. 228 p.
12. Adersen Z.J., Sram R.J., Scasny M., Gurzau E.S. Newborns health in the Danube Region: Environment, biomonitoring, interventions and economic benefits in a large prospective birth cohort study. *Environment International*. 2016. № 88. P. 112 – 122.
13. Sawidis T., Breuste J., Mitrovic M., Pavlovic P., Tsigaridas K. Trees as bioindicator of heavy metal pollution in three European cities. *Environmental pollution*. 2011. № 159. P. 3560-3570.
14. Kalinovic T.S., Serbula S.M., Radojevic A.A., Kalinovic J.V., Steharnik M.M., Petrovic J.V. Elder, linden and pine biomonitoring ability of pollution emitted from the copper smelter and the tailings ponds. *Geoderma*. 2016. №262. P. 266 – 275.
15. Tarricone K., Wagner G., Klein R. Toward standardization of sample collection and preservation for the quality of results in biomonitoring with trees. *Ecological indicators, Germany*. 2015. № 57. P.341 – 359.
16. Vukovic G., Urosevic M. A., Goryainova Z., Pergal M., Skriyanj S., Samson R., Popovic A. Activemoss biomonitoring for extensive screening of urban air pollution: Magnetic and chemical analyses. *Science of the total environment*. 2015. № 521 – 522. P. 200 – 210.
17. Iodice P., Adamo P., Capozzi F., Di Palma A., Spagnuolo A., Giordano S. Air pollution monitoring using emission inventories combined with the moss bag approach. *Science of the total environment*. 2016. № 541. P. 1410 – 1419.
18. Adams M.D., Kanaroglou P.S. A criticality index for air pollution monitors. *Atmospheric pollution research*. 2016. №7. P.482 – 487.
19. Adersen Z.J., Sram R.J., Scasny M., Gurzau E.S. Newborns health in the Danube Region: Environment, biomonitoring, interventions and economic benefits

in a large prospective birth cohort study. *Environment International*. 2016. № 88. P. 112 – 122.

20. Annangi B., Bonassi S., Marcos R., Hernandez A. Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. *Mutation Research*. 2016. № 770. P. 140–161.

21. Holt, E. A., Miller, S. W. Bioindicators: Using Organisms to Measure Environmental Impacts. *Nature Education Knowledge*. 2010 . № 3(10). P 211- 214

22. Parmar Trishala K., Deepak Rawtani, Agrawal Y. K. Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. *Frontiers In Life Science*. 2016. vol. 9, №. 2. P. 110 – 118

23. Carignan V, Villard MA. Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review. *Environ Monit Assess*. 2001. №78. P. 45 – 61.

24. Chakraborty S., Paratkar G.T. Biomonitoring of trace element air pollution using mosses. *Aerosol Air Qual Res*. 2006. № 6. P. 247 – 258

25. Hans W., Dyble P.J., Moisaner P.H., Noble R.T., Piehler M.F., Pinckney J.L., Steppe T.F., Twomey L, Valdes L.M. Microbial indicators of aquatic ecosystem change: current applications to eutrophication studies. *FEMS Microbiol Ecol*. 2003. № 46. P. 233 – 246.

26. Butterworth Frank M., Gunatilaka Amara, Gonsebatt Maria E. *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental*. New York : Springer Science + Business Media. 2012. 508 p.

27. Hastings J.W., Gibson Q.H., Friedland J., Spudich J. Molecular mechanism in bacterial bioluminescence: on energy storage intermediates and role of aldehyde in the reaction. *Bioluminescence in progress*. Acad. Press. 1965. P. 151 – 186.

28. Hastings J.W. Bioluminescence. *Annual Rev. Biochem*. 1968. V.37. P. 597 – 630.

29. Shilo M., Yetinson T. Physiological characteristics underlying the distribution patterns of luminous bacteria in the Mediterranean sea and the gulf of Elate. *Environ. Microbiol*. 1979. V.38(4). P.577–584.

30. Shimomura O., Johnson F.H., Morise H. The aldehyde content of luminous bacteria and of an “aldehydeless” dark mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1974. V.71(12). P. 4666 – 4668.
31. Shimomura O. *Bioluminescence: Chemical principles and methods*. New Jersey: World Sci. Pub. 2008. P. 470.
32. Brodl Eveline, Winkler Andreas, Macheroux Peter. Molecular Mechanisms of Bacterial Bioluminescence. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2018. № 11. P. 551 – 564.
33. Dunlap P. *Bioluminescence, microbial*. Oxford: Elsevier. 2009. P. 45–61.
34. Hastings J.W., Potrikus C.J., Gupta S.C., Kurfürst M., Makemson J.C. Biochemistry and physiology of bioluminescent bacteria. *Adv Microb Physiol* 1985. № 26. P. 235–91.
35. Baumann P., Baumann L., Bang S., Woolkalis M. Revaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckea* and *Photobacterium*: abolition of the genus *Beneckea*. *Curr. Microbiol*. 1980. V. 4(3). P. 127 – 132. 47.
36. Baumann L., Baumann P. The marine gram-negative eubacteria. In *The procariotes*. Springer-Verlag. 1981. P. 83-181.
37. Baumann P., Baumann L., Woolkalis M., Bang S. Evolutionary relationships in *Vibrio* and *Photobacterium*. A basis for a natural classification. *Ann. Rev. Microbiol*. 1983. V. 37. P.363-398.
38. Meighen EA. Molecular biology of bacterial bioluminescence. *Microbiol Rev* 1991. № 55. P. 123 – 142.
39. Robertson L.A., Figge M.J., Dunlap P.V. Beijerinck and the bioluminescent bacteria: Microbiological experiments in the late 19th and early 20th centuries. *FEMS Microbiol Ecol*. 2011 № 75. P. 185 – 194.
40. Urbanczyk H., Ast J.C., Dunlap P.V. Phylogeny, genomics, and symbiosis of *Photobacterium*. *FEMS Microbiol Rev*. 2011. № 35 P. 324 – 342.
41. Meighen E.A. Bacterial bioluminescence: organization, regulation, and application of the lux genes. *FASEB*. 1993 № 7. P. 1016 – 1022.

42. Kurfürst M., Ghisla S., Hastings J.W. Characterization and postulated structure of the primary emitter in the bacterial luciferase reaction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984 № 81. P. 2990 – 2994.

43. Anvar D. Ismailov, Leyla E. Aleskerova, Kristina A. Efremenko A. Biosensors Using Free and Immobilized Cells of Luminous Bacteria In *Bioluminescence - Analytical Applications and Basic Biolog. Analytical Applications and Basic Biology*. IntechOpen. 2019. 124 p.

44. Lei Y., Chen W., Mulchandani A. Mint: Microbial biosensors. *Analytica Chimica Acta*. 2006. № 568. P. 200 – 210.

45. Bulich A. A., Isenberg D. Z. Use of the luminescent bacterial system for the rapid assessment of aquatic toxicity. *Instrum. Soc. Am. Trans.* 1981. V.20, N1. P. 29 – 33.

46. Bulich A. A. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process Biochem*. 1982. V.17. P.45 – 47.

47. ДСТУ 150 10381-2:2004 Відбирання Проб. Частина 2. Настанови з методів відбирання проб. Київ : Держспоживстандарт України. 2006. 30 с.

48. РД 52.04.186-89 Частина 1. Посібник із контролю забруднення атмосфери. Забруднення атмосфери у містах та інших населених пунктах. Л. : Держкомгідромет. 1979. 693 с

49. ДСТУ 8812:2018. Якість повітря. Викиди стаціонарних джерел. Настанови з відбирання проб. Київ : Держспоживстандарт України. 2018. 43 с.

50. Colowick S., Kaplan N. *Methods in Enzymology, Bioluminescence and Chemiluminescence*. New York : Academic Press. 2001. Vol. 57. P. 125 – 236.