**МЕТОДИ ОЦІНКИ ЯКОСТІ ПИТНОЇ ВОДИ**

**Санітарно-гігієнічні ГДК забруднювальних речовин**

***Санітарно-гігієнічна ГДК*** *хімічної речовини* [1] *у воді – це максима-льна концентрація, що не впливає прямо чи опосередковано на стан здоро-в*'*я нинішнього і наступного поколінь людини при впливі на організм і не по-гіршує санітарні умови водокористування.*

Методична схема санітарно-гігієнічних ГДК передбачає вивчення впливу забруднювальних речовин за трьома ***лімітуючими ознаками шкі-дливості* (ЛОШ)**: *санітарно-токсикологічною* (чутливість живих організ-мів до дії токсичних речовин), *органолептичною* (смак, колір, запах) і з*а-льносанітарною* (інтенсивність БСК, процесів мінералізації азотовмісних речовин, розвитку і відмирання сапробної мікрофлори, тобто інтенсивність процесів самоочищення вод).

По кожній із ЛОШ визначають граничну (діючу) і підпорогову (не-діючу) концентрації, за допомогою яких знаходять порогову концентрацію речовини.

За ГДК приймається мінімальна порогова концентрація з трьох, ви-значених за кожною із ознак шкідливості, і відмічається ЛОШ, при якій спостерігалась мінімальна порогова концентрація.

Санітарно-гігієнічні ГДК не призначалися для захисту екологічного благополуччя водойми, їх мета полягала в забезпеченні безпечних умов водокористування для людини. Вони використовуються тільки для тих во-дойм, що призначені для господарсько-питного і комунально-побутового водокористування.

Поява нових джерел і розширення масштабів забруднення зумовили необхідність розгляду обмеження шкідливих впливів не тільки з погляду безпеки людини, але і з погляду безпеки водних екосистем. З'явилась са-мостійна система рибогосподарських ГДК, спрямованих на охорону во-дойми як бази для організації рибальства і рибництва.

**1.4.3 Рибогосподарські ГДК забруднювальних речовин**

При встановленні рибогосподарських ГДК застосовується спеціальна система досліджень [1], що включає оцінку впливу хімічної речовини на процеси самоочищення води, первинне продукування органічної речовини і на життєдіяльність окремих видів гетеротрофних гідробіонтів. Тест-об'єктами є представники різних ланок трофічного ланцюга водних екоси-стем (бактерії, водорості, зоопланктон, молюски, ракоподібні, риби).

Тут також покладено в основу принцип ЛОШ. Додатковими ознака-ми вводяться *токсикологічна* (чутливість різних видів гідробіонтів до дії токсичних речовин) і *рибогосподарська* (втрата товарної якості рибної продукції через нагромадження в ній недопустимих кількостей шкідливих речовин).

По кожній ознаці шкідливості визначається порогова концентрація токсичної речовини по набору тест-об'єктів, тобто береться порогова кон-центрація для найслабшої ланки з цього набору тест-об'єктів.

За ГДК приймається мінімальна порогова концентрація із п'яти, ви-значених по кожній з ознак шкідливості, і відмічається ЛОШ, при якій спостерігалась мінімальна порогова концентрація.

Розроблені слідом за санітарно-гігієнічними ГДК рибогосподарські нормативи стали логічним доповненням до водного санітарного законо-давства. «Правила охорони поверхневих вод від забруднення стічними во-дами» і «Правила санітарної охорони морів» містять ГДК шкідливих речо-вин для водних об'єктів господарсько-питного, комунально-побутового водокористування і для рибогосподарських водойм.

Рибогосподарські і санітарно-гігієнічні ГДК суттєво відрізняються (табл. 1.2).

Таблиця 1.2 – Рибогосподарські і санітарно-гігієнічні ГДК деяких речовин

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Забруднюваль-на речовина  | Рибогосподарські ГДК  | Санітарно-гігієнічні ГДК  |
|  ЛОШ  | ГДК, мг/дм3  | ЛОШ  | ГДК, мг/дм3  |
| Аміак  | токсикологіна  | 0,05  | загальносанітарна  | 2,0  |
| Анілін  | –“–  | 0,0001  | санітарно-токсик.  | 0,1  |
| Гексахлоран  | –“–  | 0,01  | органолептична  | 0,02  |
| ДДТ  | –“–  | 0  | санітарно-токсик.  | 0,1  |
| Кадмій  | –“–  | 0,005  | –“–  | 0,01  |
| Карбофос  | –“–  | 0  | органолептична  | 0,05  |
| Метанол  | санітарно-токсик.  | 0,1  | санітарно-токсик.  | 3,0  |
| Метазін  | органолептична  | 1,0  | органолептична  | 0,3  |
| Нафтопрод.  | рибогосподарська  | 0,05  | органолептична  | 0,3  |
| Ентобактер.  | загальносанітарна  | 10,0  | –  | –  |

У зв'язку з тим, що можливості встановлення ГДК значно відстають від інтенсивності впровадження нових хімічних речовин у виробництво, постала необхідність встановлення тимчасових ГДК. Найбільш перспек-тивним є математичний метод, що дозволяє прогнозувати токсичну дію речовини за результатами токсикологічних випробувань. Для багатьох ре-човин розраховані максимальні недіючі дози (МНД), які досить близько збігаються з ГДК, одержаними в тривалих експериментах.

Так для нітросполук виведена формула [1]:

*Lg МНД* = 0,8 \* *lg LD*50 – 3,6 , (1.3)

де *LD*50 – летальна доза хімічної речовини, що спричиняє при введенні в організм загибель 50% тварин, мг/кг.

**1.4.4 Класи небезпеки**

Прийняті нормативи далекі від досконалості. Вивчаючи вплив речо-вин на самоочищення водного середовища [1], гігієністи в основному при-діляють увагу не процесам самоочищення, а тому, наскільки вони здатні забезпечити процеси відмирання патогенних мікробів і процеси мінералі-зації. Іхтіологи в першу чергу оцінюють ефективність формування необ-хідної для риби якості води, тобто це більшою мірою торкається інтересів цілісності водної екосистеми.

У цілому система критеріїв на основі ГДК не враховує синергізму (сумарної дії) і антагонізму (придушення) забруднювальних речовин. Поза полем зору залишається кумуляція речовин водними організмами, наприклад, водоростями, з подальшим вивільненням їх під час масового відмирання водоростей. Для більшості речовин немає надійних аналі-тичних методів контролю.

Далі, токсичність речовин залежить від конкретної гідрохімічної си-туації: температури, рН, розчиненого кисню, комплексу органічних речо-вин і т.д.

І, нарешті, процеси трансформації речовин у воді включають цілий ряд стадій, причому проміжні продукти нерідко виявляються більш токси-чними, чим первинна речовина. У зв'язку з цим при нормуванні скидів сті-чних та інших зворотних вод у водні об'єкти рибогосподарського призна-чення даних про ГДК недостатньо. Необхідно наводити такі дані:

– стабільність і особливості детоксикації речовини, включаючи її метаболіти і кінцеві продукти розпаду;

– кумулятивні властивості речовини, а також терміни їх дії, поза залежністю, до якої ЛОШ віднесена речовина при встановленні ГДК. Наприклад, амоній і нітрити є токсичними речовинами, але при розрахунку ГДС вони повинні бути включені і у групу з токсикологічною ЛОШ, і з загальносанітарною як біогени, нарівні з органічним і нітратним азотом.

Кумуляція речовини може супроводжуватися біонакопиченням, тоб-то послідовним нагромадженням (підвищенням концентрації) речовини в представниках кожного подальшого харчового рівня.

За характером трансформації речовини можуть бути поділені на 3 групи:

1) речовини, які практично не трансформуються у водних об'єктах (наприклад, NaCl);

2) речовини, метаболіти яких, вступаючи в складні сполуки з при-родними компонентами, змінюють характер і інтенсивність дії на гідробіо-нти і водні об'єкти (токсичність може зростати);

3) речовини, що піддаються деградації в природних водах шляхом послідовного перетворення в усе більш прості сполуки (метаболіти можуть бути більш токсичними, кінцевий продукт може входити в кругообіг чи виходити з нього).

Таблиця 1.3 – Відносна токсичність речовин

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Група  | Токсичність  | *LC50 за* 96–120 ч., мг/дм3  | ГДКРГ, мг/дм3  | *LC*50 / ГДКРГ  |
| 1  | Особливо висока  | < 0,01  | < 0,0001  | 100  |
| 2  | Висока  | 1,0–0,01  | 0,01–0,0001  | 100  |
| 3  | Середня  | 10,0–1,0  | 0,10–0,01  | 50  |
| 4  | Помірна  | 100–10,0  | 10,0–0,10  | 10  |
| 5  | Мала  | 1000–100  | 200–10,0  | 5  |
| 6  | Дуже мала  | > 1000  | > 200  | < 5  |

Таблиця 1.4 – Здатність до кумуляції

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Група  | Кумуляція  | *КК, відношення концентрації речовини в* організмі до вихідної у воді  |
| 1  | Надвисока  | > 1000  |
| 2  | Висока  | 200–1000  |
| 3  | Помірна  | 51–200  |
| 4  | Слабовиражена  | 1,1–50  |
| 5  | Відсутня  | ≤ 1,0  |

Таблиця 1.5 – Групи стабільності речовин за строками детоксикації (з ура-хуванням часу перетворення речовини і її токсичних мета-болітів або таких, що підвищують сапробність)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Група  | Стабільність  | Час (доба) детоксикації в 20 разів (*τ*95) при різних температурах  |
| 10  | 40  | 100  | 200  |
| 1  | Мала  | ≤ 50  | ≤ 33  | ≤ 20  | ≤ 5  |
| 2  | Помірна  | 60–100  | 40–70  | 20–30  | 6–10  |
| 3  | Середня  | 100–580  | 70–400  | 30–190  | 10–60  |
| 4  | Висока  | 580–1700  | 400–1200  | 190–560  | 60–180  |
| 5  | Дуже висока  | 1700–3500  | 1200–2400  | 560–1100  | 180–365  |
| 6  | Надвисока  | > 3500  | > 2400  | > 1100  | > 365  |

За ступенем [1] токсичності, кумуляції і стабільності речовини під-розділяють на класи небезпеки.

***Перший клас*** – надзвичайно небезпечні забруднювальні речовини. Речовини, що лімітуються з токсикологічною і рибогосподарською ЛОШ, представлені винятково ксенобіотиками (речовинами, які не мають аналога в природі). ГДК нижче 0,00001 мг/дм3 (1-а група токсичності), 1 – 2 групи кумуляції (*КК* > 200). До цього класу відносяться речовини по кожній із за-значених ЛОШ. Постійні скиди цих речовин у рибогосподарські водні об'єкти недопустимі.

***Другий клас*** – високо небезпечні речовини. Ксенобiотики, з токсико-логічною і рибогосподарською ЛОШ, ГДК від 0,0001 до 0,00001 мг/дм3, (1-а група токсичності), 3-я група кумуляції, в окремих випадках 4-а група, якщо доведено, що виявляються патологічні явища в організмі, ураженому токсикантом, 4-а група стабільності. Для району півночі лімітуються по класу 1.

***Третій клас*** – небезпечні речовини, ГДК від 0,01 до 0,0001мг/дм3 (2-а група), ксенобiотики і речовини природного походження, лімітуються за токсикологічною рибогосподарською й органолептичною ЛОШ. Слабка кумуляція (4-а група, якщо не спричиняє видимих патологічних явищ і легко виводиться з організму), 3-я група стабільності (*τ*95 < 60 діб).

***Четвертий клас*** – помірно небезпечні, ГДК > 0,01 мг/дм3 (3, 4, 5, 6 групи токсичності), кумуляція відсутня, 1 і 2 групи стабільності. Речовини природного походження, частково ксенобіотики.

З наведеної додаткової інформації до рибогосподарських ГДК можна судити про недосконалість використовуваних видів нормування вмісту ре-човин у воді. Тому сьогодні все більше мова йде про екологічне нормуван-ня, при якому враховувався би вплив речовини не на окремий організм, а на реакцію екосистеми в цілому.

Для кожної водної екосистеми необхідно визначити власні критерії якості природного середовища, що залежать від екологічного резерву еко-системи.

В основі екологічного нормування лежить всебічний аналіз середо-вища, системний підхід до регулювання якості природного середовища й оцінка гранично допустимого екологічного навантаження (ГДЕН) на еко-систему, при якому розглядувана екосистема може нормально функціону-вати. На цей час визначені загальні принципи обґрунтування ГДЕН, реалі-зовані, наприклад, через концепцію асиміляційної ємності екосистем.

Всебічний аналіз середовища виконується на основі системи моніто-рингу, однією із задач якого є виявлення реакції біотичних складових еко-систем на дію забруднювальних речовин.

Другий етап всебічного аналізу полягає у визначенні екологічно до-пустимих навантажень на окремі організми і популяції, а також у визначенні критичної ланки екосистеми (найбільш чутливого виду організмів). За цим видом і визначається навантаження на екосистему в цілому.

**1.4.5 Біогеохімічні ГДК**

Поширення рибогосподарських ГДК на морські води [1] дає іноді парадоксальні результати. Наприклад, ГДК цинку дорівнює 10 мкг/дм3, що нижче від середньої концентрації цього елемента у Світовому океані. Таким чином, може скластися враження про глобальне забруднення Світового океану цинком, що не відвідає дійсності.

Відповідно до основних положень *біогеохімії* і *геохімічної екології*, *організми і екосистеми еволюційно адаптувалися до хімічних факторів се-редовища*. Тому є підстави стверджувати, що існуючі в цей час концентра-ції металів у Світовому океані оптимальні для біологічного населення, а крайні межі відбивають критичні рівні недостатнього (якщо елемент пот-рібен для життєдіяльності) чи надлишкового (якщо елемент токсичний) вмісту елемента в морському середовищі.

Надлишковий рівень і є еволюційно обумовленою межею зони мак-симально допустимого вмісту металу для всього населення Світового оке-ану. Ці положення дозволили С.А. Патiну [1] розробити новий підхід (***біо-геохімічний***) визначення ГДК тих елементів, які є природними компонентами складу води в морському середовищі.

Таблиця 1.6 – ГДК деяких речовин для морських та океанічних вод

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Забруд- нювальна речовина  | Верхній поріг толерантності  | МНД (максимальна недіюча концентрація), мг/дм3  | ГДК для вод, мг/дм3  | Рибогос- подарськi ГДК, мг/дм3  |
| океан  | море  | океан  | море  |
| Ртуть  | 0,0001  | 0,001  | 0,0001  | 0,0001  | 0,001  | 0,005  |
| Свинець  | 0,005  | 0,010  | 0,010  | 0,010  | 0,010  | 0,0100  |
| Цинк  | 0,050  | 0,050  | 0,010  | 0,050  | 0,050  | 0,010  |
| Мідь  | 0,005  | 0,005  | 0,001–0,005  | 0,005  | 0,005  | 0,010  |
| Нафтопродукти  | –  | –  | 0,010  | 0,010  | 0,010  | 0,050  |
| ДДТ, ПХБ та інші  | –  | –  | 0,00001  | 0,00001  | 0,00001  | 0  |
| Детергенти  | –  | –  | 10–1–10–11  | 10–1–10–11  | 10–1–10–11  | 10–1–10–11  |

Для кожного компонента встановлюється *біологічно допустимий* (*толерантний*) діапазон концентрацій у морській і океанічній воді (табл. 1.6) за формулою:

*LВ* = *ССЕР* + 2*σ*(*С*) та *LН* = *ССЕР* – 2*σ*(*С*) , (1.4)

де *LВ* і *LН* – верхній і нижній пороги толерантності;

*ССЕР* – середня концентрація елемента у морі або в океані;

*σ*(*С*) – стандартне відхилення сукупності результатів, які викорис-товувались для оцінки *ССР*. Перевага такого нормування у тому, що воно встановлює ГДК для всієї біоти морів і океанів.

При встановленні ГДК широко використовується також і традицій-ний токсикологічний метод, заснований на пошуку меж між граничними і недіючими концентраціями токсичних речовин для різних видів, груп і стадій розвитку гідробіонтів.

Причини розходження рибогосподарських ГДК для вод морів і океа-нів пов'язані з різницею в методиках нормування, зі специфікою хімічного складу морських вод і фізіологічних особливостей морських організмів.

**1.4.6 Екологічні нормативи**

Сьогодні усе більше мова йде про розробку ***екологічних*** (*біоценоти-чних*) ГДК. Це обумовлено недоліками діючої системи нормативів.

1. Концентрація речовин у воді не відображає токсикологічне наван-таження на екосистему, тому що не враховує процеси акумуляції речовин у біологічних об'єктах і донних відкладах.

2. Видова стійкість водних тварин до токсикантів залежить не стільки від специфіки механізмів дії токсикантів, скільки від сформованої в ре-зультаті тривалого еволюційного процесу адаптації тварин до природного (фонового) вмісту цих токсикантів.

3. Діючі ГДК не враховують специфіку функціонування водних еко-систем у різних природно-кліматичних зонах (широтна й вертикальна зо-нальність). Відомо, що різні біогеохімічні провінції (і окремі водойми) від-різняються один від одного за вмістом в поверхневих водах Рb в 2000 разів, Ni – в 1350, Zn – в 500, Сu – в 10 000, Cr – в 17 000 разів.

4. Не враховуються ефекти синергізму та антагонізму.

5. При обґрунтуванні ГДК не враховується різний трофічний статус екосистем, сезонні особливості природних факторів, на фоні яких проявля-ється токсичність забруднювальних речовин.

6. При розробці санітарно-гігієнічних нормативів пріоритетом є здо-ров'я людини, при розробці рибогосподарських – якість води, яка потрібна для риби (хоча риба не є слабкішою ланкою водних біоценозів).

Перераховані, а також деякі інші недоліки санітарно-гігієнічних і ри-богосподарських нормативів не відкидають необхідність оцінки стану вод-них об'єктів по ГДК, але свідчать про необхідність розробки нових підхо-дів. Загальна концепція простежується досить чітко – основними завданнями екологічного нормування й водної токсикології повинні стати:

– оцінка впливу токсичних речовин не тільки на окремі організми,

але і на надорганізмові системи (популяції й угрупування), яким властиві специфічні реакції на антропогенні фактори;

– складання пріоритетного списку речовин, на які живі організми ре-агують найбільш активно, з урахуванням їхньої кількості, ступеня токсич-ності і трансформації у водній екосистемі.

Завдання екологічної токсикології більш складні, чим «класичної», оскільки пов'язані з оцінкою токсичного впливу на більше різноманітний спектр організмів, розповсюджуваний від бактерій до ссавців.

З викладеного можна припустити, що сама по собі екологічна (біо-ценотична) ГДК як нормативна величина не відрізняється від діючих сані-тарно-гігієнічної чи рибогосподарської, оскільки визначається за єдиною схемою. Достатньо розширити до певної розумної межі кількість порогів хронічної дії за рахунок включення нових груп біоіндикаторів і враховува-ти в коефіцієнті запасу додаткову специфіку речовини (наприклад, здат-ність акумулюватися в донних відкладах).

Таким чином, установлення «біоценотичних» ГДК зводиться до ви-значення критичних навантажень забруднювальних речовин, що не спри-чиняють гноблення конкретних популяцій біоценозів, і, в остаточному під-сумку, до уточнення понять «норми» й «патології» для гідробіологічних угруповань.

Встановлення екологічних нормативів у лабораторних умовах украй важко, тому необхідно виконувати нормування з урахуванням стану біоце-нозів у природних умовах.

**Біоіндикація водного середовища**

**Гідробіологічний аналіз поверхневих вод і донних відкладів**

Гідробіологічний аналіз якості вод дозволяє:

- визначити екологічний стан водних об'єктів;

- оцінити якість вод як середовища мешкання живих організмів;

- визначити сукупний ефект впливу забруднювальних речовин;

- перевірити наявність вторинного забруднення.

*Біоценоз і його біотоп існують як єдине ціле.* На зміни, що відбува-ються в біотопі (у тому числі антропогенні), біоценоз реагує зміною інтен-сивності й характеру свого метаболізму, свого видового складу. У водної екосистемі особливості біоценозу визначають швидкість й інтенсивність процесів самоочищення (формування чистої води). *Особливості біоценозу повною мірою відбивають особливості біотопу*, *на цьому засновані всі методи гідробіологічного аналізу якості вод і донних відкладів* [12].

Для гідробіологічного аналізу якості вод можуть можна використати практично всі групи організмів, що населяють водні об'єкти: планктонні й бентосні безхребетні, найпростіші водорості, макрофіти, бактерії та риби. Кожна група організмів як біоіндикатор має свої переваги і недоліки, які визначають границі її використання при вирішенні завдань біоіндикації.

***Водоростям*** належить провідна роль в індикації зміни якості води в результаті евтрофування водного об'єкта. При евтрофуванні водного сере-довища й відповідному погіршенні його якості сукцесія видового складу особливо сильно проявляється в угрупованні ***фітопланктону***. Однак [12] водорості не можуть бути індикаторами фекального забруднення, посеред-ньо залежать від органічного забруднення й мають слабку чутливість до важких металів і пестицидів.

Значення ***зоопланктону*** як біоіндикатора дуже велике й обумовлено це в першу чергу тим, що серед зоопланктонних організмів зустрічаються представники патогенної фауни, яки обмежують використання водного об'єкта з метою водопостачання та рекреації [12]. Зоопланктон має виріша-льне значення при біоіндикації якості води середніх шарів пелагіалі вели-ких озер, звідки виробляється забір води для водопостачання, а також у ги-рлових затоках річок, що впадають у водоймище в його верхній частині з великими добовими коливаннями рівня.

Індикація якості вод по ***найпростіших*** використовується в тих випа-дках, коли потрібна оцінка забруднення безпосередньо в момент узяття проби й незадовго до цього. Експрес-методи оцінки якості вод по найпрос-тіших дозволяють одержати надійну інформацію практично миттєво [12].

Крім того, найпростіші є високочутливими індикаторами сапробного стану водного об'єкта (органічного забруднення).

Для одержання надійних оцінок води, що протікає, у водотоках або водних масах, розташованих вище специфічного придонного шару у водоймах, використовується ***перифітон***. За своїм складом і розвитком організми перифітону відповідають середнім умовам, при яких існувало угруповання до моменту дослідження.

***Зообентос*** є добрим й у ряді випадків єдиним біоіндикатором за-бруднення донних відкладів і придонного шару води. Склад біоценозів ві-дносно постійний поки він перебуває в умовах, у яких він сформувався. У досить чистих водах донні угруповання в добре аерованих ділянках дна характеризуються високою видовою різноманітністю, що свідчить про га-рний стан водної екосистеми. У забруднених водних об'єктах зникають групи тварин, найбільш чутливих до окремих забруднювальних речовин. Відбувається видозміна складу біоценозів, іноді катастрофічна, що приз-водить до заміни їх іншим складом. *Макрозообентос* є основою багатьох систем біоіндикації, у тому числі біотичних балів і біотичного індексу.

***Макрофіти*** найчастіше використовуються при рекогносцируваль-ному огляді водних об'єктів з метою екологічно обґрунтованого розміщен-ня постійних пунктів контролю забруднення. У прибережно–водній рос-линності виявляється легко піддається обліку домінантна флора. При цьому [12] по підтипу *водної рослинності*, представленої гідромезофітни-ми, гідрофітними й гідрофотофітними видами, оцінюється якість водного середовища, а по підтипу *прибережної рослинност*і, представленої гідро-фітними, мезофітними й ксеромезофітними видами, оцінюється забруд-нення донних відкладів слаборозчинними й малорухомими токсичними речовинами.

При забрудненні водних об'єктів змінюється видовий склад, біомаса й продукція макрофітів, виникають морфологічні аномалії, відбувається зміна домінантних видів. Однак при використанні макрофітів як біоіндика-торів якості вод і донних відкладів необхідно враховувати їхню більшу стійкість до короткочасного забруднення.

Особливість ***бактеріологічного*** аналізу води (як і хімічного) полягає в можливості характеризувати якість води тільки безпосередньо в момент добору проб. Бактерії є незамінними індикаторами фекального забруднен-ня, а також можуть служити добрими індикаторами органічного й токсич-ного забруднення. Особливості ростової реакції деяких видів бактерій до-зволяють установити [12] присутність у воді нітратних солей свинцю, міді й кадмію в концентраціях 5\*10–5 моль/дм3, окису ртуті – 5\*10–7 моль/дм3 і срібла – 5\*10–18 моль/дм3.

Висока чутливість мікробіологічних показників до фекального за-бруднення обумовлена великою різницею у вмісті мікроорганізмів-індикаторів у стічних водах й у воді контрольованого водного об'єкта. Для ряду бактерій–індикаторів ця різниця досягає сотень тисяч і навіть десятків мільйонів разів. Це дозволяє використати бактеріологічні показники при контролі розповсюдження забруднення у водному об'єкті, а також при ви-вченні процесів самоочищення й розведення стічних вод. При біоіндикації якості вод за бактеріологічними показниками необхідно враховувати шви-дкість відновлення угруповань після тимчасового забруднення.

Дані по ***іхтіофауні*** важливі при оцінці стану в цілому водного об'єк-та, який має рибогосподарське призначення. Випадки масової загибелі ри-би часто виявляються першими сигналами залпових, аварійних скидів за-бруднювальних речовин.

Відсутність риби у водних об'єктах, особливо в тих, де колись води-лася риба, вказує на крайнє неблагополуччя в екосистемі, причиною якого може бути сильне (важке) забруднення. Однак наявність риби у водному об'єкті ще не свідчить про відсутність у воді або донних відкладах речо-вин, шкідливих для риби й людини, особливо при їхньому тривалому впливі. Тому наявність риби не може бути індикатором ні біологічної чи-стоти вод, ні відсутності у води присмаку або запаху ні придатності води для питних потреб або купання, а також для яких-небудь промислових ці-лей [12].

Біологічні наслідки забруднення вод і донних відкладів можна дос-лідити за допомогою кожної з перерахованих вище груп організмів, але всебічна характеристика стану екологічної системи можлива тільки на ос-нові аналізу й узагальнення досить повних даних по різних водних угру-пованнях.

*Серед методів гідробіологічного аналізу поверхневих вод сапробіо-логічний аналіз займає одне з найважливіших місць*. Спочатку під сапроб-ностю розумілася здатність організмів розвиватися при більшому або ме-ншому вмісті у воді органічних забруднювальних речовин. Потім експериментально було доведено, що сапробність організму обумовлена як його потребою в органічному харчуванні, так і резистентністю стосов-но шкідливих продуктів розпаду й дефіциту кисню в забруднених водах.

У класичній системі організми–індикатори поділяють на три групи:

1) організми сильно забруднених вод – *полісапроби*;

2) організми помірковано забруднених вод – *мезосапроби* (із двома підгрупами *α* і *β*);

3) організми малозабруднених вод – *олігосапроби*.

***Полісапробні води*** в хімічному відношенні характеризуються бідні-стю на кисень і більшим вмістом вуглекислоти й високомолекулярних ор-ганічних речовин, що легко розкладаються, – білків і вуглеводів. У цих водах інтенсивно протікають процеси редукції й розпаду з утворенням сі-рчистого заліза в мулі й сірководню. Населення полісапробних вод має малу видову різноманітність, але окремі види можуть досягати великої чисельності. Аерофільні організми повністю відсутні. Тут особливо поширені безбарвні джгутиконосці й бактерії (більше 106 кл/см3). Полісап-робні організми можуть зустрічатися в мезосапробних водах, але в оліго-сапробних водах не утворять постійної картини й зустрічаються надзви-чайно рідко.

Характерним для ***α–мезосапробних*** вод є енергійне самоочищення. Воно відбувається у результаті окисних процесів за рахунок кисню,який виділяється хлорофілоносними рослинами. Серед цих рослин зустріча-ються деякі синьо–зелені, діатомові й зелені водорості. Велику чисель-ність мають гриби й бактерії (більше 105 кл/см3). Тут можуть жити неви-могливі до кисню види риб.

В ***β–мезосапробних*** водах процеси самоочищення протікають менш інтенсивно. У них домінують окисні процеси. Нерідко спостерігається пе-ресичення киснем. Переважають такі продукти мінералізації білка, як амонійні сполуки, нітрити й нітрати. У цих водах різноманітно представ-лені тваринні й рослинні організми. Серед останніх зустрічаються діато-мові, зелені й синьо–зелені. Число бактерій звичайно не перевищує 105 кл/см3. Багато макрофітів знаходять тут оптимальні умови для свого рос-ту.

***Олігосапробні*** води представляють практично чисті води великих озер. Для них характерна майже повна мінералізація органічних речовин, їхня концентрація не перевищує 1 мг/дм3. Число бактерій не більше 103 кл/см3, якщо не попадають випадково занесені форми. В олігосапробних водах багато представлені перидінеі, зустрічаються навіть харові водорос-ті.

Одним з найпоширеніших і зручних методів сапробіологічного ана-лізу стосовно організмів планктону вважається *метод Пантле й Бука* в модифікації Сладечека. Для гідробіологічного аналізу забруднення вод і донних відкладів малих рік за складом донних макробезхребетних най-більш перспективним визнано *метод біотичних індексів* р. Трент, розроб-лений Вудівісом. Для оцінки стану водних екосистем у цілому використо-вуються також *індекси видової різноманітності*. Однак використання їх є спірним, оскільки мала видова різноманітність може спостерігатися як у дуже забруднених, так і у дуже чистих водах. Крім того, коливання видо-вої різноманітності в тих самих водах може бути пов'язане з динамікою сезонного масового вильоту імаго комах.

У системі Гідробіологічної служби СРСР був прийнятий класифіка-тор якості вод, що містить 6 класів (табл. 4.1). Клас якості вод визначаєть-ся на основі даних по зообентосу, перифітону, фітопланктону й зоопланк-тону, а також по бактеріопланктону, коли цей показник використову-ється.

Остаточна експертна оцінка якості вод здійснюється з урахуванням таких показників: чисельність і біомаса організмів, загальне число видів, співвідношення різних груп організмів в окремих угрупованнях, стану макрофітів, інтенсивності продукційно–деструкційних процесів, активно-сті мікробіологічних процесів. Загальна оцінка якості вод у кожному кон-кретному випадку дається по сукупності гідробіологічних показників.

Таблиця 4.1 – Класи якості вод суши за гідробіологічними показниками

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Клас  | Води  | Зообентос  | Фіто–планктон, зоо– планктон, перифітон  | Мікробіологічні показники  |
| Чисельність оліго-хет, % від загаль-ної кількості  | Біотиний індекс  | Індекс сапробності по Пантле Буку (модифікація Сла-дечека)  | Загальна кількість бактерій, млн.кл/см3 (а)  | Сапрофітні бактерії, тис.кл/см3 (б)  | *а/б*  |
| I  | Дуже чисті  | 1–20  | 10–8  | <1,00  | ≤0,5  | ≤0,5  | >103  |
| II  | Чисті  | 21–35  | 7–5  | 1,00–1,50  | 0,6–1,0  | 0,6–5,0  | >103  |
| III  | Помірно забруд-нені  | 36–50  | 4–3  | 1,51–2,50  | 1,1–3,0  | 5,1–10,0  | 102–103  |
| IV  | Забруднені  | 51–65  | 2–1  | 2,51–3,50  | 3,1–5,0  | 10,0–50,0  | <102  |
| V  | Брудні  | 66–85  | 1–0  | 3,51–4,00  | 5,1–10,0  | 50,0–100  | <102  |
| VI  | Дуже брудні  | 86–100  | 0  | >4,00  | >10,0  | >100  | <102  |

Примітка. Припустимо оцінювати клас вод як проміжний між II–III, III–IV та IV–V.

**4.1.2 Оцінка якості вод по макрозообентосу**

*Організми* ***зообентосу*** *займають у водоймі два основних біотопи*: *ґрунт* (*поверхня й товщу*) *і рослинність*. Рухливі організми можуть відри-ватися від поверхні субстрату й плавати у воді, займаючи третій біотоп – водну товщу в межах придонного шару або водного простору в заростях макрофітів.

***Зообентос*** внутрішніх водойм умовно ділять на три групи:

1) *макробентос* – більше 2–3 мм;

2) *мезобентос* – 0,5–3 мм;

3) *мікробентос* – менше 0,5 мм.

У ***макробентос*** попадають *великі організми*, наприклад, двостулкові молюски, личинки хірономід останніх віків, статевозрілі особини олігохет. Мезобентос поєднує тварин, які з ростом переходять до складу макрофауни, а також розміри яких і в дорослому стані не перевищують 2 мм. Мікро-бентос включає дрібні організми, представлені головним чином найпрос-тішими, коловертками, турбеляріями й гастротріхами.

По *макрозообентосу* визначаються такі показники:

– *загальне число організмів*;

– *загальне число видів*;

– *загальна біомаса*;

– *кількість груп по стандартному розбору*;

– *чисельність основних груп*;

– *біомаса основних груп*;

– *число видів у групі*;

– *масові види й види індикатори сапробності*.

Оцінка якості вод по показниках зообентосу проводиться за багатьма методиками. Найпоширенішим є ***метод біотичних індексів***, у якому об'є-днані *принцип індикаторного значення окремих таксонів* і *принцип зміни різноманітності фауни* в умовах забруднення.

Таблиця 4.2 – Робоча шкала для визначення біотичного індексу

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показові організми  | Видове розмаїття | Біотичний індекс за наявністю загального числа «груп»  |
|  |  | 0–1  | 2–5  | 6–10  | 11–15  | ≥16  |
| Личинки веснянок  | Більше одного виду  | –  | 7  | 8  | 9  | 10  |
| Тільки один вид  | –  | 6  | 7  | 8  | 9  |
| Личинки одноденок (викл. *Baёtis rodani*)  | Більше одного виду  | –  | 6  | 7  | 8  | 9  |
| Тільки один вид  | –  | 5  | 6  | 7  | 8  |
| Личинки ручейников (вкл. *Baёtis rodani*)  | Більше одного виду  | –  | 5  | 6  | 7  | 8  |
| Тільки один вид  | –  | 4  | 5  | 6  | 7  |
| Гамаруси  | Всі вищеназвані види відсутні  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  |
| Водяний ослик  | Те ж  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  |
| Тубіфіциди і (або) (червоні) личинки хірономід  | Те ж  | 1  | 2  | 3  | 4  | –  |
| Всі вищеназвані гру-пи відсутні  | Можуть бути присутні деякі види, невимогливі до кисню  | 0  | 1  | 2  | –  | –  |

*У робочій шкалі біотичного індексу* (табл. 4.2) використовується найбільш часто зустрічаєма *послідовність зникнення тварин у міру збіль-шення забруднення*. Для врахування різноманітності фауни запропоновано умовне поняття «*група*» тварин, під яким для одних тварин розуміються

*окремі види*, для інших груп, що важко визначаються, більш *великі таксо-ни*. За сумою «груп» і якісним складом тварин визначаються значення біо-тичного індексу.

Робота зі шкалою починається з визначення позиції в першій графі при русі зверху вниз у міру відсутності в розглядуваній пробі показових організмів. Потім ураховується видова різноманітність у показовій групі (друга графа). Після цього за сумою «груп» в останній графі «Біотичний індекс...» перебуває стовпець із відповідним числом «груп» у пробі та у цьому стовпці на перетині з лінією показової групи визначається значення біотичного індексу. Далі по табл. 4.1 оцінюється стан водного середовища й донних відкладів.

Для гідробіологічного контролю якості вод використовують також біоіндикатори великих таксонів. *Методика Гуднайта й Уітлея* (табл. 4.3) побудована на оцінці стану придонного шару води і донних відкладів *по відносній чисельності олігохет* (малощетинкових черв'яків).

Таблиця 4.3 – Оцінка стану водного середовища за методикою Гуднайта і Уітлея

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Стан річки  | Добрий  | Сумнівний  | Сильно забруднений  |
| Олігохети, % від загально-го числа донних організмів  | <60  | 60–80  | >80  |

Відносна чисельність олігохет як і біотичний індекс використовуєть-ся в класифікаторі якості вод (табл. 4.1).

Існують методики оцінки стану водотоків, засновані на обліку відно-сної чисельності олігохет і тубіфіцид, а також личинок хірономід, ортокла-дин і таніподин.

Поряд з викладеними методиками при визначенні якості вод по ор-ганізмах зообентосу, у деяких випадках використовують метод індикатор-них організмів, оснований на системі сапробності (див. п. 4.1.3). Індекс са-пробності можна розрахувати по одній якій-небудь групі організмів, що домінують при даних екологічних умовах.

**4.1.3 Оцінка якості вод по перифітону, фіто**– **і зоопланктону**

*Під* ***перифітоном*** *розуміють угруповання*, *що живуть на твердому субстраті за межами специфічного придонного шару води*. У нього вхо-дять як угрупування на *предметах*, *уведених у воду людиною* (*судна*, *буї*, *гідротехнічні споруди* й т.п.), так і на *природних субстратах*: *каменях*, *ко-рчах* і *макрофітах*.

У прісних водоймах до складу перифітону входять бактерії, водорос-64

ті, найпростіші, коловертки, личинки хірономід, нематоди, олігохети. Рід-ше зустрічаються моховинки, губки, гриби, молюски та інші групи органі-змів. Для угруповань перифітону характерна перевага форм організмів, прикріплених до субстрату. Найбільш показове значення має перифітон, що розвивається на предметах, які перебувають у проточних місцях во-дойми, де неможливі які-небудь випадкові застої брудної або чистої води.

***Зоопланктон*** – *сукупність тварин*, *що населяють товщу води*. Зоо-планктон прісних вод представлений в основному найпростішими, колове-ртками, веслоногими й гілчастовусими раками. Організми зоопланктону в основному – мікроскопічні форми. Залежно від лінійних розмірів прісно-водний планктон прийнято ділити на такі групи:

1) *мезопланктон* – найбільш великі організми, видні неозброєним оком, їхні розміри досягають декількох міліметрів (циклопи, дафнії й т.п.);

2) *мікропланктон* – організми з розмірами від 50 до 1000 мкм (кла-доцери, копеподи й ін.);

3) *нанопланктон* – організми, довжина тіла яких менше 50 мкм;

4) *ультраланктон* – украй дрібні організми з довжиною тіла менше 20 мкм.

За типом водойми розрізняють: *евлімнопланктон* – планктони озер; *гелеопланктон* – планктони ставків; *тельмапланктон* – планктон калюж; *кренопланктон* – планктони джерел; *потамопланктон* – планктон річок.

***Фітопланктон*** – *мікроскопічні організми*, *що вільно плавають у то-вщі води й здійснюють фотосинтез*. Угруповання фітопланктону є одним з найважливіших елементів водних екосистем. Асоціації реофільного пла-нктону представлені головним чином діатомовими й зеленими протокок-ковими водоростями. У складі лимнофільних комплексів найбільш масо-вими, такими, що спричиняють «цвітіння» водойм, є ціанобактерії.

Таблиця 4.4 – Співвідношення значень відносного достатку (обилия)

і частоти зустрічальності (встречаемости) організмів

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Частота  | Кількість екземплярів одного виду, % за-гальної кількості екземплярів  | *h*  |
| Дуже рідко  | <1  | 1  |
| Рідко  | 2–3  | 2  |
| Нерідко  | 4–10  | 3  |
| Часто  | 10–20  | 5  |
| Дуже часто  | 20–40  | 7  |
| Маса  | >40  | 9  |

Для оцінки якості вод по *перифітону*, *фіто*– і *зоопланктону* викори-стовується *метод індикаторних організмів Пантле й Букка* в модифікації Сладечека [12]. Цей метод заснований на використанні індексу сапробнос-

ті, що розраховується за формулою:

*S* = Σ(*sh*) / Σ*h*, (4.1)

де *s* – індикаторна значущість виду живих організмів;

*h* – відносна частота зустрічальності виду.

Індикаторну значущість *s* визначають для кожного виду по списках сапробних організмів [12]. Частоту зустрічальності *h* оцінюють за окомір-ною шкалою (табл. 4.4).

**4.1.4 Структурні характеристики угрупувань**

*Структуру угрупувань* характеризують ***індексами багатства і різ-номаніття*** (Маргалефа, Менхініка, Шенона та інш.) [16].

Індекс видового багатства Маргалефа визначається за формулою:

*d* = (*s* – 1) / *ln N* , (4.2)

де *s* – число видів;

*N* – число особин.

Індекс Менхініка розраховується за формулою:

*dМ* = (*s* – 1) / (*N*)1/2 . (4.3)

Формула індексу видового різноманіття Шенона має вигляд:

*m*

*Н* = – Σ (*ni* / *N*) *ln* (*ni* / *N*), (4.4)

1

де *m* – число видів;

*ni* – число (біомаса) особин певного виду в одиниці об'єму води;

*N* – загальне число (біомаса) особин в одиниці об'єму води.

У цілому використання структурних характеристик угрупувань (ін-дексів видового багатства або різноманіття) як метода біоіндикації має ряд переваг і недоліків [16].

До переваг слід віднести:

– відносну простоту розрахунку і визначення;

– широкий вибір структурних характеристик.

До недоліків:

– *відсутність єдиної загальноприйнятної бальної градації*;

– вузький діапазон видів–індикаторів, які використовують для конкретного розрахунку.

*Структурні характеристики* угрупувань зазвичай *використовують паралельно із різними біотичними індексами*, що дозволяє комплексно ві-66

дображати якість води, а їх бальна оцінка можлива шляхом порівняння з еталонними створами.

**4.1.5 Токсобність вод**

***Токсобністю*** *характеризують кількість токсичних речовин у воді*, здатних впливати на водну флору й фауну. За вмістом токсичних речовин води можуть бути *оліго*–, *мезо*– та *політоксобними*. *Мезотоксобні* води мають дві підгрупи: *β–мезотоксобні* та *α–мезотоксобні*.

Відповідно [19] *оцінка токсобності вод виконується по наявності у водному об*'*єкті видів–індикаторів різної токсобності*. Фрагмент довідни-ка, що відноситься до зоопланктону й зообентосу, наведено у табл. 4.5.

Відповідно до табл. 4.5, води одержують певний клас токсобності, якщо не порушується відтворення, продуктивність, якість таксономічних груп, які є індикаторами даного класу токсобності, а також всіх груп, роз-ташованих у стовпцях праворуч.

Таблиця 4.5 – Розподіл організмів за токсобністю [19]

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Екологічна  | Таксономічна  | Оліготоксоби  | *β*–мезотоксоби  | *α*–мезотоксоби  | Політоксоби  |
| Зоо–планктон  | Остракоди  | Всі види  | Всі види  |
| Водні кліщі  | Всі види  | Всі види  |
| Кладоцера  | Дафніди, сідіди, хижаки, кладоцера  | Хідоріди, босмініди  |
| Веслоногі  | Каланіди  | Циклопоіди  |
| Коловратки  | Всі, окрім *α*–мезотоксобів  | Бделлаіди  |
| Інфузорії  | Рухливі форми  | Рухливі форми  |
| Безбарвні джгутикові  | Всі види  | Всі види  |
| Зообентос  | Ракоподібні  | Гаммаріди, мізіди, корофіїди, річковий рак  | Ізопода  |
| Харпактіциди  | Всі види  | Всі види  |
| Молюски  | Двостулкові  | Черевоногі  |
| Водні насекомі  | Одноденки  | Одноденки, бабки, рученики  | Хірономіди, жуки, клопи, мокриці, куліциди  |
| Черва  | Олігохети  | Олігохети, крім політоксобів, п'явки, планарії  | Тубіфіциди, люмбріциди, нематоди  |

**Біотестування вод**

**4.2.1 Загальні положення біотестування вод**

***Біотестування*** – *це метод, який дозволяє досліджувати сумісний вплив усіх речовин, що містяться у воді* (*в т.ч. і забруднювальних*)*, на представників живої природи, які в ній мешкають*. Як *тест–об*'*єкти* ви-користовують домінуючі та ключові види, найбільш вразливі до різних ви-дів забруднення. Ці організми або вирощують в лабораторних умовах, або беруть із досліджуваного водного об'єкта (району моря) і адаптують до ла-бораторних умов.

Як правило, *тестування природних та стічних вод* [6] проводять на різних представниках *фіто–* і *зоопланктону* (*біотестування донних відк-ладень*, що піддаються антропогенному впливу, проводять на представни-ках *зообентосу*):

*на дафніях* проводять тестування *стічних вод, що утворюються на різних етапах технологічного процесу*, а також стічних вод іншого похо-дження, *які скидаються у водні об*'*єкти*;

*на парамеціях* проводять тестування *стічних вод, що відводяться на очисні споруди*;

за допомогою *каланусів, акартій та пенілій* (а також *одноклітинних водоростей*) досліджується *вплив ґрунтів*, що скидаються в районах підво-дних звалищ у Чорному морі [9], *на якість водного середовища*.

Перед початком експериментів [6] зазвичай перевіряється придат-ність організмів для тестування з допомогою ***еталонної речовини*** (речо-вини з відомою токсичністю). Як еталонна речовина для культури дафній використовується К2Cr2O7, для культури парамецій – CuSO45H2O.

***Придатність дафній для тестування*** [6] проводять шляхом визна-чення середньої летальної концентрації розчину К2Cr2O7 за 24 години (*LC*50–24).

Готують розчин К2Cr2O7 на дистильованій воді з концентрацією 1 г/дм3. Із нього методом розводження, використовуючи дехлоровану питну воду, готують серію розчинів з концентраціями від 0,5 до 3,0 мг/дм3 з інте-рвалом 0,5 мг/дм3 .

Біотестування розчинів проводять протягом 24 годин. Через 24 годи-ни для кожного розчину з відомою концентрацією К2Cr2O7 розраховують відносну кількість загиблих дафній (*А*) за формулою:

*А* = 100 (*ХК* – *ХД*)/ *ХК*, (4.5)

де *А* – кількість загиблих дафній, %;

*ХК* – середнє арифметичне значення кількості живих дафній у ко-нтролі;

*ХД* – середнє арифметичне значення кількості живих дафній у до-сліджуваній воді.

Далі пробіт–методом визначають *LC*50–24. Якщо *LC*50–24 перебуває у діапазоні 1,0–2,5 мг/дм3, то культура дафній придатна для тестування.

***Придатність культури парамецій для біотестування*** проводять шляхом [6] визначення середньої летальної концентрації розчину CuSO45H2O за 1 годину (*LC*50–1).

Виготовляють розчин CuSO45H2O на дистильованій воді з концент-рацією 1 мг/дм3. Із нього методом розводження готують серію розчинів з концентраціями від 0,5 до 2,0 мг/дм3 з інтервалом 0,5 мг/дм3, використо-вуючи дехлоровану питну воду.

Тестування розчинів проводять протягом 1 години. Через 1 годину для кожного розчину розраховують показник *А* за формулою:

*А* = 100 *Х*2/ *Х*1 , (4.6)

де *А* – кількість загиблих парамецій, %;

*Х*1 та *Х*2 – середнє арифметичне значення кількості живих парамецій на початку тестування і загиблих парамецій наприкінці тестування, шт.

Далі за допомогою пробіт–методу оцінюють *LC*50–1. Якщо *LC*50–1 знаходиться у діапазоні 1,0–1,5 мг/дм3 – культура парамецій придатна для тестування.

При перевірці придатності організмів для тестування, а також часто у процесі обробки результатів тестування необхідно визначити концентра-цію (кратність розводження) речовин у водному середовищі, за якої зна-чення (змінення) показника реагування організмів становить 50%. Для цьо-го обробку даних проводять, використовуючи [9] відомий в біометрії ***пробіт–аналіз*.**

Концентрації (кратності розводження) речовини переводять у десят-кові логарифми, а значення показника реагування, що їм відповідають – у пробіти (табл. 4.6). Одержані дані наносять на графік, відкладаючи на осі абсцис логарифми значень концентрації речовини, а на осі ординат – про-біти, що їм відповідають. По точках проводять пряму лінію. Ця пряма до-зволяє визначити *LC*50 (пробіт = 5), тобто концентрацію, за якої значення показника реагування дорівнює 50%.

Після виконання підготовчих робіт *приступають до біотестування*, яке полягає в тому, що в хімічні посудини з досліджуваною та контроль-ною водою поміщують тест–об'єкти i слідкують за їх реакцією. Звичайно експеримент проводять з трикратною повторюваністю, тобто готують 3 ємності з контрольною водою і по 3 ємності для досліджуваної води і кож-ного її розводження, якщо такі необхідні. Умови тестування (температура води, вміст кисню, освітлення і т.д.) повинні бути оптимальними для жит-тєдіяльності організмів.

Таблиця 4.6 – Переведення вiдсоткiв летальних наслідків у пробiти [9]

|  |  |
| --- | --- |
| *А,* %  | Десяті частки, %  |
| 0  | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  |
| 1  | 2,67  | 2,71  | 2,74  | 2,77  | 2,80  | 2,83  | 2,86  | 2,88  | 2,90  | 2,93  |
| 2  | 2,95  | 2,97  | 2,99  | 3,00  | 3,02  | 3,04  | 3,06  | 3,07  | 3,09  | 3,10  |
| 3  | 3,12  | 3,13  | 3,15  | 3,16  | 3,18  | 3,19  | 3,20  | 3,21  | 3,23  | 3,24  |
| 4  | 3,25  | 3,26  | 3,27  | 3,28  | 3,29  | 3,30  | 3,32  | 3,33  | 3,34  | 3,35  |
| 5  | 3,36  | 3,36  | 3,37  | 3,38  | 3,39  | 3,40  | 3,41  | 3,42  | 3,43  | 3,44  |
| 6  | 3,45  | 3,45  | 3,46  | 3,47  | 3,48  | 3,49  | 3,50  | 3,50  | 3,51  | 3,52  |
| 7  | 3,52  | 3,53  | 3,54  | 3,55  | 3,55  | 3,56  | 3,57  | 3,57  | 3,58  | 3,59  |
| 8  | 3,59  | 3,60  | 3,61  | 3,61  | 3,62  | 3,63  | 3,63  | 3,64  | 3,65  | 3,65  |
| 9  | 3,66  | 3,67  | 3,68  | 3,68  | 3,69  | 3,70  | 3,70  | 3,70  | 3,71  | 3,71  |
| *А,* %  | Одиниці  |
| 0  | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  |
| 10  | 3,72  | 3,77  | 3,82  | 3,87  | 3,92  | 3,96  | 4,01  | 4,05  | 4,08  | 4,12  |
| 20  | 4,16  | 4,19  | 4,23  | 4,26  | 4,29  | 4,33  | 4,36  | 4,39  | 4,42  | 4,45  |
| 30  | 4,48  | 4,50  | 4,53  | 4,56  | 4,59  | 4,61  | 4,64  | 4,67  | 4,69  | 4,72  |
| 40  | 4,75  | 4,77  | 4,80  | 4,82  | 4,85  | 4,87  | 4,90  | 4,92  | 4,95  | 4,97  |
| 50  | 5,00  | 5,03  | 5,05  | 5,08  | 5,10  | 5,13  | 5,15  | 5,18  | 5,20  | 5,23  |
| 60  | 5,25  | 5,28  | 5,31  | 5,33  | 5,36  | 5,39  | 5,41  | 5,44  | 5,47  | 5,50  |
| 70  | 5,52  | 5,55  | 5,58  | 5,61  | 5,64  | 5,67  | 5,71  | 5,74  | 5,77  | 5,81  |
| 80  | 5,84  | 5,88  | 5,92  | 5,95  | 5,99  | 6,04  | 6,08  | 6,13  | 6,18  | 6,23  |
| 90  | 6,28  | 6,34  | 6,41  | 6,48  | 6,55  | 6,64  | 6,75  | 6,88  | 7,05  | 7,33  |

Тривалість експерименту становить не більше 96 годин. *Стан водно-го середовища оцінюють за порушенням життєдіяльності тест–об*'*єктів*. *Індикація цих порушень* здійснюється за такими ознаками: *смерт-ність* у зоопланктону і *швидкість споживання радіоактивного вуглецю* (радіовуглеводний метод) у одноклітинних водоростей.

*Після закінчення експерименту* результати підлягають статистичній обробці. Якщо середні значення показника реагування організмів (кіль-кість загиблих організмів (%) або зниження швидкості споживання радіоа-ктивного вуглецю (%) у контрольному та досліджуваному середовищах) відрізняються мало, то перевіряють статистичну значущість [9] відмінності експериментальних даних по цих середовищах, використовуючи критерій Стьюдента:

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

*tР* = |*ХСЕРД* – *ХСЕРК*| / (√(*ДД* + *ДК*) /*n*), (4.7)

*ХСЕР* = (Σ*Хі*)/*n*, *Д* = (Σ(*Хі* – *ХСЕР*)2) / (*n* – 1),

де *ХСЕРД* і *ХСЕРК* – середнє значення показника в досліджуваному та кон-трольному середовищах;

*ДД* і *ДК* – дисперсія значень показника для досліджуваного та контро-

льного середовищ;

*n* – повторюваність у експерименті.

Перевірку можна виконати подвійно.

а) Розраховують значення критерію (*tР*) за формулою (4.7), викорис-товуючи експериментальні дані, і порівнюють з табличним значенням при ймовірності 0,95 і степені вільності (*n* – 1). Для трикратної повторності табличне значення критерію дорівнює 2,92.

Якщо *tР* > 2,92, то розходження середніх значень показника у дослі-джуваному середовищі і у контролі вважається статистично значущим. У цьому випадку результат використовують у подальшій статистичній обро-бці. При *tР* < 2,92 відхилення не є статистично значущим. Результат експе-рименту не використовується у подальшій статистичній обробці.

б) Визначається абсолютне Δ*ХР* різниці *ХД* і *ХК*: Δ*ХР* = | *ХД* – *ХК* |.

Використавши формулу (4.7), визначають, яке відхилення відповідає табличному значенню *tТ*–критерію:

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Δ*Х* = *tТ* √(*ДД* + *ДК*) /*n*) = 2,92 √(*ДД* + *ДК*) /*n*). (4.8)

Якщо Δ*ХР* > Δ*Х*, відхилення статистично значуще. У протилежному випадку – незначуще.

***Межі 95–відсоткового інтервалу*** [9] – праву (*LC*50*П*) і ліву (*LC*50*Л*) визначають за формулами:

*LC*50*П* = *LC*50 \* *F* (*LC*50), *LC*50*Л* = *LC*50 / *F*(*LC*50), (4.9)

\_\_

*F* (*LC*50) = *S* 2,77/ √ *N'*, (4.10)

*S* = 0,5 [(*LC*84 / *LC*50) + (*LC*50/*LC*16)], (4.11)

де *LC*16 і *LC*84 – концентрації, за яких значення показника реагування дорівнюють 16 і 84%;

*N'* – загальна кількість організмів, які використовуються при тес-туванні і які попали до інтервалу *LC*16 і *LC*84.

**4.2.2 Біотестування вод на різних етапах технологічного процесу**

*Метою тестування* [6] *є визначення найбільш токсичних стічних вод*, що утворилися на різних етапах технологічного процесу, для вжиття необхідних заходів щодо зменшення їх токсичності, а також запобігання зменшенню ефективності біологічного очищення стічних вод, які відво-дяться з підприємства.

Для виявлення, зіставлення та контролю токсичності стічних вод на різних етапах технологічного процесу використовуються дафнії (*Daphnia*  *magna Straus*).

Таблиця 4.7 – Класифікація гострої летальної токсичності стічних вод на різних етапах технологічного процесу

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Клас токсичності  | Характеристика стічної води  | Час завершення біотестування, год  | Кількість загиблих дафній, %  |
| 1  | не виявляє гострої летальної токсичності  | 96  | < 50  |
| 2  | слаботоксична  | 96  | ≥ 50  |
| 3  | помірно токсична  | 48  | –“–  |
| 4  | середньо токсична  | 24  | –“–  |
| 5  | високотоксична  | 6  | –“–  |
| 6  | надзвичайно токсична  | 1  | –“–  |

Метод біотестування засновується на визначенні відносної кількості загиблих дафній у воді, яка аналізується, порівняно з контрольною водою (контролем).

*Ступінь токсичності стічної води оцінюється тривалістю періоду часу* (*але не більше 96 годин*)*, протягом якого проявляється гостра лета-льна токсичність*. Чим менший період часу, протягом якого гине не менше 50% дафній, тим більш токсична вода (табл. 4.7)

Для біотестування використовуються дафнії віком до 24 годин. Се-редня летальна концентрація двохромовокислого калію для культури даф-ній за 24 години (*LC*50–24 К2Cr2O7) повинна перебувати у діапазоні 1,0–2,5 мг/дм3.

Тестування проводять у приміщенні без шкідливої пари та газів при розсіяному освітленні, температура води 18–22о С, концентрація О2 у воді на початку тестування повинна становити не менш як 6 мг/дм3, наприкінці – не менш як 2 мг/дм3. Кількість загиблих дафній у контролі після закін-чення тестування повинна бути не більше 10% від їх початкової кількості. Для контролю використовують дехлоровану питну воду.

Проби досліджуваної та контрольної води наливають у спеціально призначений хімічний посуд об'ємом 100 см3. Усього заповнюють по 3 до-сліджуваних і контрольних ємності. У кожній із досліджуваних і контро-льних ємностей розміщують по 10 екземплярів дафній. Їх переносять за допомогою скляної трубки діаметром 5–7 мм.

Через 1, 6, 24, 48 та 96 годин з початку біотестування у кожній із до-сліджуваних і контрольних ємностей візуально підраховують кількість жи-вих дафній, які вільно переміщуються у товщі води або спливають із дна ємності не пізніше, ніж через 15 секунд після її струшування. Решту даф-ній вважають такими, що загинули. Якщо в будь-який із моментів спосте-реження у досліджуваних ємностях гине не менше 50% дафній, тестування завершують.

Таблиця 4.8 – ПРОТОКОЛ виявлення на дафніях гострої летальної токсичності проб води

Назва підприємства\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Місце відбору проби\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата і час відбору проби\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата і час початку тестування\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *LC*50–24 К2Cr2O7 Ємності  | Повто-рність  | Час тесту-вання, год  | Концентрація розчиненого кисню, мг/дм3  | Кількість живих да-фній, шт.  | Середня ариф-метична кіль-кість живих дафній, шт.  | *А,%*  |
| Контрольні  | 1 2 3  |
| Дослід- жувані  | 1 2 3  |

Відносну кількість загиблих дафній розраховують за формулою (4.5)

Висновок про наявність або відсутність гострої летальної токсичнос-ті проби стічної води виконують відповідно до величини *А*: при *А* ≥ 50% вважається, що проба води проявляє гостру летальну токсичність; при *А* < 50% – не проявляє. *Клас токсичності встановлюють за тривалістю пері-оду часу, коли проявилася гостра летальна токсичність* (табл. 4.7).

Форму подання результатів тестування наведено у табл. 4.8.

**4.2.3 Біотестування вод, що відводяться на біоочистку**

Для виявлення та контролю гострої летальної токсичності стічних вод, що відводяться [6] на біологічні очисні споруди, використовують па-рамеції (*Paramecium caudatum Ehrenberg*).

Метод біотестування засновано на визначенні відносної кількості за-гиблих парамецій у воді, яку аналізують, наприкінці тестування та на по-чатку.

*Критерієм токсичності води є прояв гострої летальної токсичнос-ті за* 1 *годину тестування* (*загибель не менш як* 50*% парамецій*).

Для біотестування використовується лабораторна культура параме-цій. *LC*50–1 міді сірчанокислої п'ятиводної (CuSO45H2O) для культури па-рамецій повинна знаходитись у діапазоні 1,0–1,5 мг/дм3.

На предметному столику стереомікроскопа розміщують пластинку з ямками. У 6 ямках піпеткою розміщують по 10–11 парамецій. При цьому у ямках об'єм перенесеної рідини з парамеціями повинен бути не більше за

0,02 см3.

Таблиця 4.9 – ПРОТОКОЛ виявлення на парамеціях гострої летальної

токсичності проби стічної води

Назва підприємства \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Місце відбору проби \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата і час відбору проби \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата і час початку тестування \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| *LC*50–1 CuSO4 5H2O Ємності  | Повтор-ність  | Кількість парамецій  | Середньоарифметична кількість парамецій  | *А, %*  |
| живих на початку тестування  | загиблих наприкінці тестування  | живих на початку тестування  | загиблих наприкінці тестування  |
| Дослід- жувані  | 1 2 3  |

Після розсадки парамецій у 3 контрольні ямки наливають по 0,3 см3 дехлорованої питної води, в інші 3 – по 0,3 см3 досліджуваної води. Плас-тинку поміщують у чашку Петрі. За годину у трьох досліджуваних ямках визначають середню арифметичну кількість загиблих організмів (*А*) згідно з формулою (4.6).

Якщо *А* > 50%, вважають, що проба проявляє гостру летальну токси-чність. Така вода не є безпечною для біоценозу активного мулу і здатна вплинути негативно на процес очищення. Потрібно вжити заходів щодо зниження її токсичності.

Форму подання результатів тестування наведено у табл. 4.9.

**4.2.4 Біотестування вод, що відводяться у водні об'єкти**

*Метою тестування є визначення кратності розводження* (*N*) *стіч-ної води, за якої у цій воді буде забезпечено* 100*% виживання тест–об*'*єктів за період часу* 96 *годин* (*буде відсутня хронічна токсичність*).

Згідно до існуючих рибогосподарських норм стічна вода у контроль-ному створі не повинна проявляти хронічну токсичність, а біля скиду – го-стру летальну токсичність.

Якщо при розрахункових [3] гідрологічних умовах кратність розво-дження стічних вод (*n*) у контрольному створі водного об'єкта, що розгля-дається, більша або дорівнює *N* (*n* > *N*), то можна стверджувати, що стічні води на контрольній відстані від місця їх скиду стають нетоксичними (не виявляють хронічну токсичність). У протилежному випадку (*n* < *N*) стічні

води у контрольному створі будуть мати токсичні властивості.

Ступінь токсичності стічної води оцінюється по різниці поміж *N* та *n*. У згаданій інструкції ця різниця зазначена як необхідна кратність розво-дження (*НКР*) стічної води. Вона визначається як середнє арифметичне значення ряду спостережень і прирівнюється до фактичної токсичності.

Характеристику токсичності стічної води наведено у табл. 4.10.

Таблиця 4.10 – Класифікація токсичності стічних вод

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Клас токсичності  | Характеристика стічної води  | Значення необхідної кратності розводження  |
| 1  | нетоксична  | ≤ 0  |
| 2  | слабко токсична  | 0 <–≤ 2  |
| 3  | помірно токсична  | 2 <–≤ 5  |
| 4  | середньо токсична  | 5 <–≤ 10  |
| 5  | високотоксична  | 10 <–≤ 25  |
| 6  | надзвичайно токсична  | > 25  |

Слід зазначити, що *необхідною кратністю розводження* правильні-ше було б назвати *N* (якщо вода токсична, необхідне *N*–кратне розводжен-ня, щоб вона стала нетоксичною), а різницю (*N*–*n*) – *фактичною токсичні-стю* стічної води у контрольному створі. Це більшою мірою буде відповідати фізичному значенню розглядуваних величин (авт.).

При встановленні *N* користуються методикою виявлення гострої ле-тальної токсичності, критерієм якої є загибель 50% і більше тест–об'єктів у воді, що аналізується, порівняно з контрольною водою (контролем) при тривалості тестування 96 годин.

Біотестування проб води рекомендується проводити одразу або не пізніше, як через 6 годин після їх відбирання. Якщо зазначені строки не витримуються, то воду зберігають при температурі 40С не більше 72–х го-дин.

Як тест–об'єкт використовують лабораторну культуру дафній (*Daphnia magna Straus*). Перевірка придатності дафній до тестування і умови тестування такі ж, як і були викладені раніше.

Для виявлення гострої летальної токсичності стічних вод тестують нерозведені проби і їх розчини з різною кратністю розводження (*Кр*), для чого використовують дехлоровану питну воду. Кількість розводжень по-винна бути не менше п'яти.

У три ємності заливають по 100 мл дехлорованої питної води (конт-роль). Аналогічно заповнюють по 3 ємності нерозведеною стічною водою і її розчинами. Після цього в усіх ємностях розміщують по 10 екземплярів дафній.

Через 96 годин підраховують середню арифметичну кількість живих дафній у контролі, у досліджуваній стічній воді та її розчинах. Кількість загиблих дафній у контролі повинна бути не більша за 10%.

За формулою (4.5) визначають значення *Аі* для кожної кратності роз-водження стічної води *Крi*. За допомогою цих даних пробіт–методом оці-нюють середню летальну кратність розводження (*LKр*50).

Кратність розводження [6] *N* визначають з урахуванням поправки

*N* = *k LKр*50, (4.12)

де *k* – коефіцієнт забезпечення виживаємості тест–об'єктів на рівні 100% (тимчасово встановлене значення складає 2).

Значення необхідної кратності розводження для одного спостере-ження (*НКРС*) визначають за формулою

*НКРС* = *N* – *n* , (4.13)

де *n* – розрахункова кратність розводження у контрольному створі (значення *n* береться не більше 10, що забезпечує усунення скидів стічних вод з високими показниками токсичності, незалежно від здатності водних об'єктів до розводження).

Таблиця 4.11 – ПРОТОКОЛ

виявлення на дафніях гострої летальної токсичності проби стічної

води, яка скидається у водний об'єкт

Назва підприємства\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Місце відбору проби\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Водний об'єкт (приймач)\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата і час відбору проби\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата і час початку тестування\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *LC*50–24 К2Cr2O7 Єм-ності (крат- нiсть *КР*)  | Пов-тор-ність  | Час тес-тування, год  | Концентрація розчиненого кисню, мг/дм3  | Кількість живих дафній  | Середня арифметична кількість живих дафній  | *А%*  | *LnКР* про-біт  |
| Кон-троль-ні  | 1 2 3  | – –  |
| (1)  | 1 2 3  | 0 –  |
| (5)  | 1 2 3  | 1,61 –  |

Необхідна кратність розводження (*НКР*) визначається як середнє арифметичне значення ряду спостережень *НКРС*. Отримане значення дорі-внює фактичній токсичності (*ФТ*).

Тимчасово узгоджена токсичність (*ТУТ*) дорівнює *ФТ*, якщо *ФТ* < 0, у решті випадків – найменшому значенню ряду *НКРС*.

Гранично допустима токсичність (*ГДТ*) води дорівнює *ФТ*, якщо *ФТ* менше 0, або дорівнює 0 , якщо *ФТ* > 0.

Класи токсичності показників *ФТ* і *ТУТ* визначаються у відповіднос-ті з табл. 4.10.

За матеріалами досліджень складається пояснювальна записка, яка містить протокол біотестування (табл. 4.11), графік визначення *LKр*50 і роз-рахунки необхідних показників.