

Корисна модель відноситься до дослідження ґрунтів зокрема визначення дегідрогенази і може бути використана для встановлення критичного стану ґрунту на територіях, забруднених важкими металами.

Відомий спосіб оцінки забруднення ґрунтів важкими металами, що включає визначення вмісту мобільних з'єднань важких металів у твердій фазі ґрунту та порівняння його з еталоном при цьому для оцінки використовують водорозчинну форму важких металів, а в якості еталону - ГДК їх рухливих форм. [див. пат. №49788 С2, UA, МПК 6 G 01 N 33/24, опубл. 15.10.2002, Бюл. №10].

Недоліком відомого способу є те, що враховують тільки кількість водорозчинних форм важких металів у ґрунті, та не враховують їх валовий вміст, що робить його менш достовірним.

Найбільш близьким до заявленого способу за суттю є спосіб визначення дегідрогенази у ґрунті, що включає підготовку зразків ґрунту: висушування, очищення та просіювання, внесення реактивів: розчини глюкози, трифенілтетразолію хлористого (ТТХ), CaCO_3 , створення вакууму, інкубацію при температурі 30 градусів протягом 24 годин, екстрагування етиловим спиртом, фотоколориметрування при довжині хвилі 540н.м. та порівняння з контрольним зразком. [див. Методы почвенной микробиологии и биохимии под ред. Д.Г. Звягинцева, изд. 2-е перераб. и дополн.-М.; из-во Московского Университета, 1991.-303с.].

Недоліком цього способу є те, що він має невисоку достовірність результатів через загибель частини ґрунтової мікробіоти при визначеннях, та не дозволяє виокремити конкретні джерела забруднення ґрунту.

В основу створення способу, який пропонується, поставлено завдання створення способу визначення негативного впливу ксенобіотиків, зокрема важких металів на ґрунт при збереженні всього обсягу ґрунтової мікробіоти (аеробної та анаеробної), що дозволить збільшити його достовірність та інформативність.

Для досягнення поставленого завдання у способі визначення негативного впливу ксенобіотиків на ґрунт, який включає підготовку зразків ґрунту, внесення реактивів, інкубацію при температурі 30-32°C, екстрагування етиловим спиртом, фотоколориметрирування, порівняння з контрольним зразком, згідно рішення, що пропонується, при підготовці зразків ґрунту додатково проводять стерилізацію, після внесення реактивів додають ґрунтову мікробну суспензію та ксенобіотики, інкубацію проводять ще і при температурі 22-23°C в присутності кисню протягом 1-6 діб.

Спосіб реалізується наступним чином: для підготовки зразків змішаний верхній шар родючого ґрунту ретельно очищують від коріння і інших твердих включень та просіюють через сито з діаметром отворів 0,25мм. Після цього ґрунт стерилізують у сушильному шкафу при температурі 180°C протягом 3 годин, далі ґрунт остигає до кімнатної температури (18-20°C), та береться до аналізу. Для приготування ґрунтової суспензії беруть 20г. живого родючого ґрунту, заливають 100мл. бідистильованої води та струшують у шоттель-апараті протягом 5 хвилин або вручну протягом 15-20 хвилин. Наважки стерильного ґрунту по 15г. розміщують у стерильні чашки Петрі та у кожену чашку додатково вносять по 7,5мл. 0,1М розчину глюкози, 10мг. CaCO_3 , 7,5мл. 1%-ний розчин ТТХ, а також по 15мл. визначеного навантаження дослідного матеріалу, в даному випадку - солі важких металів: нітрат нікелю ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$) та сульфат цинку ($\text{ZnSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$) або інших досліджувальних ксенобіотиків, що можуть надходити у ґрунт. Концентрації дослідного матеріалу вибирають в залежності від мети досліджень, наприклад, 1ГДК, 3ГДК, 10ГДК, 20ГДК. Для підготовки контрольного зразка наважку стерильного ґрунту 15г. поміщають у стерильну чашку Петрі та додатково вносять 7,5мл. 0,1М розчину глюкози, 10мг. CaCO_3 , 7,5мл. 1%-ний розчин ТТХ та дистильовану воду в об'ємі, рівному об'єму ксенобіотиків.

Після внесення всіх необхідних для досліду компонентів у чашках Петрі ґрунт ретельно перемішують стерильною паличкою протягом 5 хвилин. Після цього чашки Петрі поміщають у два термостати в один термостат при температурі 22°C, в другий при температурі 30°C та витримують 1 добу, 2 доби, 3 доби, 4 доби, 5 діб тощо. Після інкубування протягом 1-6 діб беруть наважки по 1,5г. дослідного ґрунту, поміщають у пробірки, екстрагують у 25мл. етилового спирту та фільтрують через паперовий фільтр "синя стрічка". Отриманий забарвлений розчин переносять у кювету 30мм. Та фотоколориметрують синім світлофільтром при довжині хвилі 540нм., записують показання приладу і порівнюють, їх з даними контролю за показником оптичної щільності (нм.).

В лабораторних умовах були проведені дослідження по визначенню впливу на ґрунт цинку (ZnSO_4) та нікелю (NiNO_3) див. таблицю та графіки 1, 2.

Дослідження показали, що у контролі протягом 5 діб вміст у ґрунті дегідрогенази змінювався в залежності від загибелі та розмноження мікроорганізмів. Так на 3 добу активно розмножувались окремі групи мікроорганізмів (фаза підйому), а протягом 4 та 5 доби їх кількість зменшується (фаза затухання), що відповідно відбивалося на вмісті гідрогенази в ґрунті. При концентрації 1ГДК нікелю та цинку фази підйому та затухання близькі до контролю, проте значення кількості дегідрогенази нижче за контроль. При концентраціях нікелю та цинку 3,10 та особливо 20ГДК розвиток мікроорганізмів в ґрунті подавляється і кількість дегідрогенази різко зменшується, що свідчить про суттєве забруднення ґрунту і необхідність проведення його очищення та рекультивації.

Таким чином, використання даного способу дозволяє визначити стан ґрунту, забрудненого ксенобіотиками, його здатність до відродження його родючості (мікрофлори) та необхідність проведення санітарно-екологічних заходів.

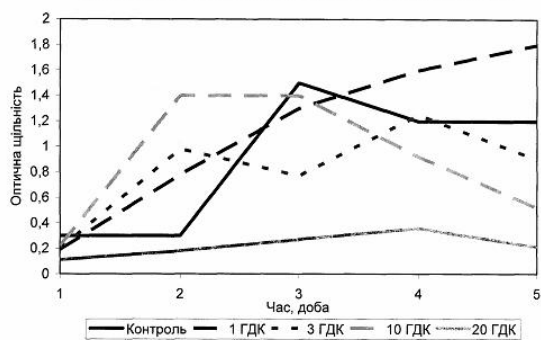
Таблиця 1

Результати експериментальних досліджень щодо вимірювань вмісту дегідрогенази при різній кількості нікелю та цинку у ґрунті (1, 3, 10, 20 ГДК) протягом 1, 2, 3, 4 та 5 діб за даними оптичної щільності (540нм)

Термін, діб	Вміст дегідрогенази за оптичною щільністю у контролі	Кратність ГДК нікелю та цинку у ґрунті	Вміст дегідрогенази за оптичною щільністю	
			Нікель	Цинк
1	0,3	1	0,19	0,15
		3	0,20	0,11

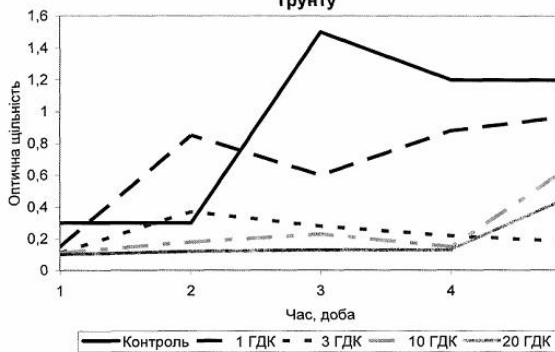
		10	0,22	0,11
		20	0,11	0,10
2	0,3	1	0,78	0,85
		3	0,98	0,37
		10	1,40	0,18
		20	0,18	0,12
3	1,5	1	1,30	0,60
		3	0,77	0,28
		10	1,40	0,23
		20	0,27	0,13
4	1,2	1	1,60	0,88
		3	1,25	0,22
		10	0,92	0,15
		20	0,36	0,13
5	1,2	1	1,80	0,98
		3	0,90	0,18
		10	0,52	0,70
		20	0,21	0,50

Вміст гідрогенази при різних концентраціях нікелю в ґрунті



Графік 1

Вміст гідрогенази при різних концентраціях цинку в ґрунті



Графік 2