

**КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ, БИОТЕХНОЛОГИИ И  
ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ**

*Кафедра биотехнологии*

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ К КУРСУ  
«БИОТЕХНОЛОГИИ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ  
ТОКСИКАНТОВ И РЕКУЛЬТИВАЦИИ ПОЧВ»**

**Казань – 2025**

**УДК 502.55**

**ББК 20.1**

*Принято на заседании кафедры биотехнологии*

*Протокол №9 от 13 мая 2025 года*

**Рецензент:**

Кандидат биологических наук,  
заведующий кафедрой кафедра прикладной экологии Института  
экологии, биотехнологии и природопользования **Л.Г. Ахметзянова**

Кандидат биологических наук,  
руководитель НИЛ Биоконтроль Института экологии, биотехнологии и  
природопользования **Л.Р. Бикташева**

**Селивановская С.Ю., Курынцева П.А., Хлебова Д.Л.**

**Биотехнологии обезвреживания органических токсикантов и  
рекультивации почв / С.Ю. Селивановская, П.А. Курынцева, Д.Л.  
Хлебова. – Казань: Казан. ун-т, 2025. – 42 с.**

Учебное пособие предназначено для студентов обучающихся по направлениям 19.04.01 «Биотехнология» и 05.04.06 «Экология и природопользование» для изучения дисциплины «Биотехнологии обезвреживания органических токсикантов и рекультивации почв» и сопровождения практических занятий. В пособии представлен теоретический материал о видах токсикантов, способах снижения негативного воздействия токсикантов на окружающую среду, а также представлено описание практических работ по данной дисциплине.

© Селивановская С.Ю. с соавт., 2025

© Казанский университет, 2025

## **СОДЕРЖАНИЕ**

<b>ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....</b>	<b>4</b>
1. Виды органических токсикантов .....	4
2. Виды неорганических токсикантов.....	9
3. Методы обезвреживания органических токсикантов .....	12
3.1. Микробная биоремедиация .....	12
3.2. Фиторемедиация .....	13
4. Методы обезвреживания органических отходов.....	14
4.1. Анаэробное сбраживание.....	14
4.2. Компостирование .....	15
<b>ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ .....</b>	<b>17</b>
1. Подготовка смесей органических отходов для анаэробного сбраживания и компостирования.....	17
2. Метод определения органического вещества .....	20
3. Приготовление водных вытяжек из отходов для дальнейшего проведения биотестирования.....	22
4. Определения pH водных вытяжек (ГОСТ 26423-85) .....	25
5. Определения токсичности отходов по смертности цериодифний (ФР.1.39.2007.03221) .....	26
6. Определения токсичности отходов методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий <i>Paramecium caudatum Ehrenberg</i> ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.13-06 (ПНД Ф 16.1:2:3.10-06).....	29
7. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли <i>Chlorella vulgaris Beijer</i> для определения токсичности отходов (ПНД Ф ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04).....	31
8. Биотестирование объектов с использованием семян редиса красного с белым кончиком <i>Raphanus sativus</i> (ISO 11269-2) .....	36
<b>ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ ОТЧЁТА.....</b>	<b>38</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>39</b>

# **ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

## **1. Виды органических токсикантов**

Токсиканты – это вещества, вызывающие интоксикацию и провоцирующие разные формы токсического процесса, не только организма, но биологических систем иных уровней организации: клеток (цитотоксикант), популяций (экотоксикант) [12]. Существует следующая классификация токсикантов:

*1. По происхождению токсиканты подразделяются на:*

- Естественные токсиканты – вещества, вырабатываемые живыми организмами или образующиеся в результате их жизнедеятельности. К ним относятся: бактериальные токсины (ботулотоксин и тетанотоксин, вырабатываемые бактериями), микотоксины (афлатоксины и трихотеценовые токсины), фитотоксины (алкалоиды, такие как атропин и никотин), зоотоксины (яды животного происхождения - яд змей и пчел).
- Синтетические токсиканты – вещества, созданные человеком в процессе химического синтеза, которые используются в различных целях, включая промышленность, сельское хозяйство и медицину. К примерам синтетических токсикантов относятся: пестициды (ДДТ), органические соединения (ПАУ, растворители), неорганические соединения (соли мышьяка и ртути, тяжелые металлы).

*2. По химической структуре:*

- Органические токсиканты включают: углеводороды, пестициды, растворители и многие другие химические соединения, содержащие углерод.
- Неорганические токсиканты включают: тяжелые металлы (например, свинец, ртуть, кадмий), кислоты и соли.

*3. По условиям воздействия выделяют [12]:*

- Загрязнители окружающей среды (воздуха, воды, почвы, продовольствия).

- Производственные (профессиональные) токсиканты.
- Бытовые токсиканты.
- Вредные привычки и пристрастия (табак, алкоголь, наркотические средства, лекарства и т.д.).
- Поражающие факторы при специальных условиях воздействия.
- Аварийного и катастрофального происхождения.
- Боевые отравляющие вещества и диверсионные агенты.

*4. По характеру воздействия на организм согласно ГОСТ 12.0.003-74*

[17] вещества подразделяются на [13]:

- общетоксические - вызывающие отравление всего организма или поражающие отдельные системы (центральную нервную систему, систему кроветворения), а также вызывающие патологические изменения печени и почек (угарный газ, свинец, ртуть, бензол);
- раздражающие – вызывающие раздражение слизистых оболочек дыхательных путей, глаз, легких, кожных покровов (хлор, аммиак, оксиды серы и азота, озон);
- сенсибилизирующие - действующие как аллергены (формальдегид, растворители, нитролаки);
- мутагенные – приводящие к нарушению генетического кода, изменению наследственной информации (свинец, марганец, радиоактивные изотопы);
- канцерогенные – вызывающие злокачественные новообразования (ароматические углеводороды, хром, никель, асбест);
- влияющие на репродуктивную функцию (ртуть, свинец, стирол).

Как в процессе жизнедеятельности человека, так и в природных процессах образуются органические соединения, которые могут оказывать негативное влияние на здоровье человека. Многие из них обладают высокой канцерогенной и мутагенной активностью, устойчивостью к химическому и биологическому разложению и способностью

аккумулироваться в живых организмах [1], все вышеперечисленное привело к одной из актуальных экологических проблем, которая обусловлена загрязнением компонентов биосфера органическими токсикантами различной природы [2].

Среди органических токсикантов выделяют углеводороды. Углеводороды, являющиеся основными компонентами нефти и природного газа, образуются в результате биологического и бактериального разложения органических веществ и керогена, отлагаются совместно с осадочными породами. Сырая нефть представляет собой сложную смесь органических соединений, включающую углеводороды (88%), метановые, нафтеновые и ароматические вещества, а также органические соединения серы, азота, и минеральные примеси [3]. Нефть, ее пары, сопутствующие газы и продукты переработки оказывают негативное воздействие на здоровье человека. К наиболее опасным примесям нефтепродуктов относятся бензол, тетраэтилсвинец и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ).

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ, полиарены) – высокомолекулярные органические соединения, в структуре которых содержится два и более бензольных кольца (Рис.1). К природным факторам, способствующим образованию ПАУ, относят: эндогенные, космические, геологические и биологические. Антропогенные источники ПАУ включают производство алюминия, асфальта, цемента, нефтехимическую промышленность [4]. Кроме того, ПАУ производятся в процессах выработки энергии, неполного сжигания мусора и угля. Так, важным источником полиаренов являются выхлопные газы автотранспорта [5]. Один из путей поступление ПАУ в почву – орошение загрязненными водами [8].

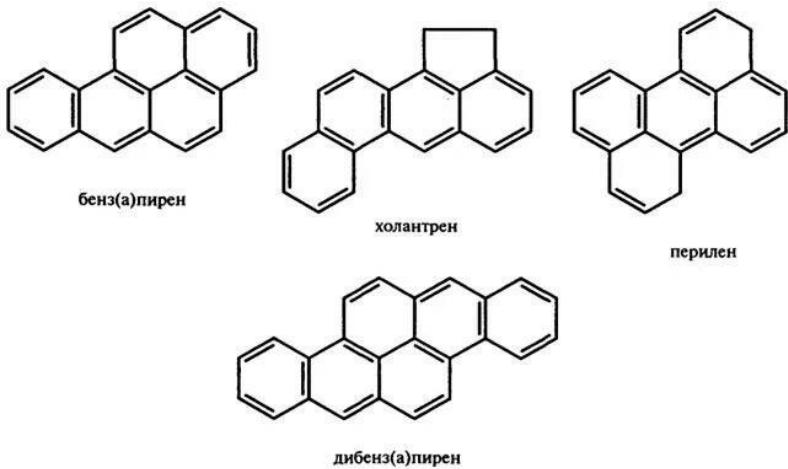


Рисунок 1. Структура отдельных представителей полициклических ароматических углеводородов

Еще одним распространённым видом органических токсикантов являются пестициды. Галогенсодержащие производные органических соединений применяются в виде гербицидов (хлорпроизводные), фунгицидов, инсектицидов. Хлорпроизводные органических соединений в природе образуются в значительном количестве при лесных пожарах, но основная масса (около 90%), имеет антропогенное происхождение. Галогенсодержащие соединения обладают большим периодом полураспада (от нескольких месяцев до нескольких десятков лет), вследствие чего происходит их накопление в различных компонентах окружающей среды [6]. В плодородных почвах их миграция и разложение идет медленнее из-за высокой адсорбционной способности таких соединений, при этом в песчаных почвах, наоборот, сорбция идет плохо, значительное количество пестицидов перемещается вниз по почвенным горизонтам и загрязняет грунтовые воды. Время полного разложения хлорорганических пестицидов в почве варьируется в широких пределах и зависит от свойств самих веществ, климатических условий, типов почв [3]. Ещё одним видом токсикантов являются органические растворители (этанол, толуол, ксилол), которые представляют собой серо- и азот-органические соединения. Органические растворители широко

применяются в различных промышленных отраслях, что приводит к массовому попаданию их в окружающую среду. Такие соединения плохо растворяются в воде и хорошо в органических растворителях, характеризуются липофильностью, обладают токсикологическими свойствами, вызывая угнетение функций ЦНС и оказывая наркотическое действие [7]. К органическим токсикантам также относятся диоксины и диоксиноподобные вещества. К этой группе ксенобиотиков относятся полихлорированные ибензодиоксины (ПХДД), полихлорированные дибензофураны (ПХДФ) и полихлорированные бифенилы (ПХБФ). Соединения данных представителей выглядят следующим образом (Рис. 2):

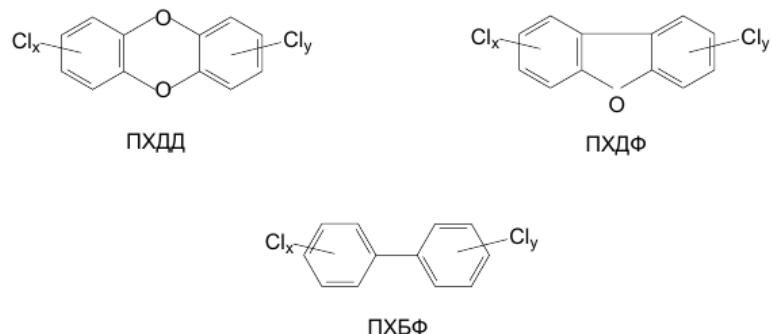


Рисунок 2. Представители диоксинов и диоксиноподобных веществ

Ксенобиотики попадают в биосферу в виде побочных продуктов – примеси, так как входят в состав препаратов гербицидов (дефолиантов) и хлорфенола. Соединения обладают широким спектром биологического действия. Они способны блокировать рецепторы клеток и аккумулироваться в живых организмах. Также вещества обладают высокой липофильностью – они способны растворяться и удерживаться в жироподобных матрицах. Из 100 исследованных штаммов микроорганизмов, способных метаболизировать полихлорированные соединения, лишь 5 обладают способностью разрушать диоксины и подобные вещества. Ввиду этого данные соединения характеризуются высокой стойкостью и сохраняются в биосфере более 10 лет [14]. К

токсикантам биологического происхождения относят бактериальные токсины. К бактериальным токсинам относятся высокомолекулярные соединения, преимущественно белковой, полипептидной или липополисахаридной структуры, которые обладают антигенной активностью. На сегодняшний день идентифицировано и исследовано более 150 токсинов. К наиболее опасным и известным веществам относятся: ботулотоксин, холерные токсины, тетанотоксин, стафилококковые токсины, дифтирийные токсины и т.д. Бактериальные токсины оказывают воздействие на разные органы и системы животных и человека, при этом наибольший вред наносят нервной и сердечно-сосудистой системе [12]. Также к токсикантам органического и биологического происхождения относят микотоксины, которые представляют собой грибные метаболиты, необходимые для их роста и размножения. Микотоксины поражают сельскохозяйственные культуры, корма и пищевые продукты, что представляет серьезную проблему для продовольственной безопасности и здравоохранения [9, 10]. Многообразие микотоксинов, их высокий уровень токсичности и способность проникать в ткани и органы приводят к разнообразным биохимическим, физиологическим и патологическим изменениям у людей и животных. Вредное воздействие микотоксинов может проявляться в виде иммунотоксичности, канцерогенности, нейротоксичности и др.

## **2. Виды неорганических токсикантов**

Среди неорганических соединений естественного происхождения наиболее опасными с точки зрения токсикологии являются металлы и их соединения, а также поллютанты – газообразные вещества атмосферного воздуха, кроме того, они могут встречаться и в воздухе производственных помещений. В природе металлы встречаются в виде руд и минералов, которые определяют в почве, воздухе и воде. Антропогенная деятельность, включающая добычу металлов из руд и их широкое применение во многих отраслях (автотранспорт, котельные,

мусоросжигающие установки, сельскохозяйственное производство и др.), привела к значительному увеличению концентрации этих элементов в окружающей среде [12]. Тяжелые металлы имеют способность к биоаккумуляции и даже в относительно низких концентрациях обладают высокой токсичностью для живых организмов [15]. Наиболее токсичными металлами являются: свинец, ртуть, цинк, кадмий, медь, хром, мышьяк, и др.

**Свинец (Pb)** – сильный токсикант. Он негативно действует на процессы растений: нарушает обмен веществ, фотосинтез, деление клеток, инактивирует дыхание. Также оказывает отрицательное влияние на биологическую деятельность в почве, снижает численность микроорганизмов, ингибирует активность различных почвенных ферментов и ферментов бактерий. В организме человека накопление свинца может вызывать различные заболевания, связанные с поражением нервной системы, цирроз печени, гипертонию [16].

**Кадмий (Cd)** является одним из опаснейших экотоксикантов. В природе источниками кадмия являются процессы выветривания и вулканизма, антропогенными источниками являются промышленные отрасли: производство красок, электротехническая промышленность и суперфосфатные удобрения. Токсическое действие данного металла связано с ингибированием белков, при этом поражаются нервная и сердечная система. Кадмий также способен проявлять канцерогенное и мутагенное действие [14].

Повышенное содержание **ртути (Hg)** также опасно для живых организмов. Металл попадает в окружающую среду в результате промышленного загрязнения и естественного испарения из земной коры. Токсическая опасность ртути основана на том, что она взаимодействует с  $-SH$  группами белков и блокирует их, при этом вызывая изменения свойств тканевых белков и инактивацию ряда гидролитических и

окислительных ферментов. Она способна приводить к нарушению обмена веществ, выделительной функции и накапливаться в печени и почках [12].

**Медь (Cu)** при высоких концентрациях в почве вызывает токсические эффекты у растений, такие как хлороз (недостаток хлорофилла), пороки развития корневой системы, задержку роста и нарушение фотосинтеза [15]. У людей и животных потребление в пищу большого количества солей меди приводит к развитию хронических отравлений. Токсическое действие меди обусловлено на химическом сходстве с серой, что приводит к блокированию сульфидных групп (R—SH) белков и ферментов [6].

**Мышьяк (As)** попадает в почву с продуктами сгорания угля, с отходами металлургической промышленности и предприятий по производству удобрений [16]. Металл высокотоксичен для большинства гидробионтов и растений. В организме человека токсическое действие металла обусловлено блокированием сульфидных групп (—SH), ферментов, белков и биологически активных веществ. Чаще всего поражаются нервная система и стенки кровеносных сосудов, нарушается жировой и углеводный обмены, понижается скорость окислительных процессов в тканях. Мышьяк является антагонистом йода, селена и фосфора. Также соединения мышьяка обладают выраженным канцерогенным и тератогенным действием, то есть он способен вызывать нарушение эмбрионального развития [6].

В группу газообразных поллютантов, которые представляют наибольшую опасность, входят следующие вещества: сероводород ( $H_2S$ ),monoоксид и диоксид углерода ( $CO$ ,  $CO_2$ ), оксиды азота ( $N_xO_y$ ), озон ( $O_3$ ), оксиды серы ( $S_xO_y$ ) и др. Загрязнение поллютантами происходит естественным путем, в результате вулканической деятельности (галогены, сероводород, оксиды серы) и в ходе лесных пожаров (сажа, оксиды азота,  $CO$ ). Источниками антропогенного происхождения газообразных загрязнителей являются: продукты сгорания топлива и отходы автотранспорта [3].

### **3. Методы обезвреживания органических токсикантов**

Существуют различные методы обезвреживания органических токсикантов, включая термические, химические, биологические и физические методы.

#### **1. Термические методы:**

- **Сжигание.** Уничтожение токсикантов при высоких температурах.
- **Пиролиз.** Разложение органических веществ в отсутствие кислорода.

#### **2. Химические методы:**

- **Окисление.** Применение окислителей (оzone, перманганат калия) для преобразования токсичных веществ в менее опасные соединения.
- **Реакция с реагентами.** Нейтрализация токсикантов с помощью химических реакций.

#### **3. Физические методы:**

- **Фильтрация.** Удаление токсикантов из воды или воздуха с помощью механических фильтров.
- **Адсорбция.** Использование адсорбентов (например, активированного угля) для захвата токсичных веществ.

#### **4. Биологические методы:**

- **Микробная биоремедиация.** Принцип основан на естественных способностях определённых микроорганизмов расщеплять и разлагать токсичные вещества на менее опасные компоненты.
- **Фиторемедиация.** Принцип основан на использовании растений для поглощения токсикантов из почвы или воды.

#### **3.1. Микробная биоремедиация**

Микробная биоремедиация – это процесс, основанный на использовании микроорганизмов для деградации и трансформации различных загрязнителей окружающей среды, включая органические соединения, тяжелые металлы и нефтепродукты [28]. Основой микробной биоремедиации служит метаболическая активность бактерий, грибов и

микроводорослей, способных использовать загрязняющие вещества в качестве источника энергии и углерода, что приводит к их разложению или превращению в менее токсичные соединения [29]. В зависимости от условий проведения различают два основных типа биоремедиации:

- *In situ* – обработка загрязненной среды непосредственно на месте загрязнения без перемещения загрязненного материала. Этот подход включает методы биоаугментации (введение специально подобранных микроорганизмов), биостимуляции (добавление питательных веществ для активации аборигенной микрофлоры) и фиторемедиации (использование растений и связанных с ними микроорганизмов). К методам биоремедиации *In situ* относят: биовосстановление, биовентиляция, биобарботирование, проницаемый реактивный барьер (PRB).
- *Ex situ* – удаление загрязненного материала с последующей обработкой в биореакторах или на специальных полигонах, что позволяет создать оптимальные условия для микробной активности и ускорить процесс очистки. К методам биоремедиации *Ex situ* относят: биореактор, валки, ландфарминг, биопленки.

### **3.2. Фиторемедиация**

Биоремедиация – биологический способ деконтаминации загрязненных почв и водных сред, основанный на использовании биологической продуктивности организмов [26]. Фиторемедиация – это приемы очистки, основанные на использовании зеленых растений. Основные направления фиторемедиации [27]:

- *Ризофильтрация*. Удаление поллютантов из окружающей среды с помощью корневой системы растений.
- *Фитоиспарение*. Использование растений для выноса контаминантов из почвы, с помощью преобразования их в летучую форму и транспирации в атмосферу.

- *Фитостабилизация.* Перевод химических соединений в менее подвижную и активную форму для снижения биодоступности контаминаントов в почве.
- *Фитоэкстракция.* Поглощение из почвы или воды тяжёлых металлов и накопление их в надземной биомассе растения.
- *Фитодеградация.* Разложение растениями и симбиотическими микроорганизмами органической части загрязнений (высокомолекулярных веществ) до нетоксичных компонентов, которые не представляют опасности для окружающей среды.

## **4. Методы обезвреживания органических отходов**

### **4.1. Анаэробное сбраживание**

Анаэробное сбраживание — это процесс биологического разложения органических веществ с выделением свободного метана под воздействием микроорганизмов в условиях отсутствия кислорода. Данный метод помогает уменьшить массу и объем органических отходов, а также получить возобновляемую энергию и органические удобрения. В результате анаэробного сбраживания образуются два основных продукта: биогаз и шлам. Биогаз является альтернативным источником энергии – это газовая смесь, состоящая из 50–87 % метана, 13–50 % углекислого газа и незначительных примесей  $H_2$  и  $H_2S$ . Шлам, образующийся в процессе получения биогаза, представляет собой остаток, содержащий компоненты удобрений (азот, фосфат, калий, макро и микроэлементы) в растворенном виде необходимых для роста растений, а также активные биологические стимуляторы класса ауксинов, способствующих повышению урожайности [22]. Процесс разложения органического вещества в анаэробном сбраживании состоит из четырех основных этапов (Рис. 3): гидролиз, ацидогенез, ацетогенез и метаногенез. На стадии гидролиза сложные высокомолекулярные органические соединения (целлюлоза, белки, липиды, жиры) расщепляются внеклеточными ферментами

микроорганизмов до более простых низкомолекулярных соединений (аминокислоты, жирные кислоты, сахара). В процессе ацидогенеза происходит образование летучих органических кислот, спиртов и газов (углекислый газ, водород, аммиак). При ацетогенезе из органических кислот и спиртов образуется уксусная кислота и ацетаты, а также газы ( $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ ). На этапе метаногенеза метаногенные бактерии превращают продукты ацетогенеза в метан и углекислый газ, которые составляют биогаз.



Рисунок 3. Этапы разложения органического вещества в процессе анаэробного сбраживания

#### 4.2. Компостирование

Биологическая переработка отходов бывает двух видов: анаэробное (разложение/сбраживание органических отходов при полном отсутствии кислорода) и аэробное (разложение в присутствии достаточного количества кислорода). Компостирование – это аэробный биологический процесс, в котором сообщества микроорганизмов преобразуют

органические вещества в концентрированные почвенные продукты с ценными агрономическими (удобрительными) свойствами. Выделяют следующие этапы процесса компостирования: сбор отходов, сортировка, дробление, сепарирование, составление компостной смеси (рН, влажность, С/Н), процесс ферментации, созревание, просеивание, готовый компост. В ходе компостирования осуществляются минерализация и гумификация органических компонентов. В минерализации происходит распад органических остатков до конечных продуктов: воды, диоксида углерода, простых солей. При гумификации происходит процесс образования гумусовых кислот, с помощью трансформации продуктов разложения органических остатков [23]. Благодаря компостированию достигается минимизация потерь питательных элементов из одних компонентов (навоза, жижи и птичьего помета), и одновременно ускоряется разложения других трудноразлагаемых отходов (торф, солома, опилки и бытовой мусор) [24]. Продукты жизнедеятельности микро- и макроорганизмов придают компосту как конечному продукту биоконверсии качественно новые свойства: экологическую безопасность, отсутствие токсинов и патогенных микроорганизмов, длительный срок хранения и высокое содержание питательных для растений веществ, что позволяет его широкое и рентабельное применение в сельском хозяйстве [25].

## **ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ**

### **1. Подготовка смесей органических отходов для анаэробного сбраживания и компостирования**

Для проведения данной работы необходимо подготовить два вида компостных смесей (Рис. 4):

1. Смесь, содержащая только пищевые отходы (овощи, фрукты, шелуха, яичная скорлупа и т.д.). При приготовлении данного компоста не используются продукты, которые заражены плесневыми грибами.
2. Смесь, состоящая из пищевых отходов (овощи, фрукты, шелуха, яичная скорлупа и т.д.) и куриного помета (или пометов/фекалий животных). Куриный помет добавляется для ускорения процесса разложения органики и насыщения субстрата дополнительными полезными элементами. Помет является источником азота, фосфора, калия, кальция и т.д.



Рисунок 4. Два вида компостных смесей

Пищевые отходы измельчаются, размер частиц находится в диапазоне 0,3-2 см. В вариант с куринным пометом к 2 частям пищевых отходов добавляется 1 часть куриного помета по массе. Из полученной смеси отбирают пробу массой не менее 200г для анализа исходных

характеристик (1КС). Полученные смеси делят для проведения компостирования и анаэробного сбраживания.

Для компостирования используются контейнеры объемом не менее 10 л. Готовую смесь для компостирования в случае необходимости доводят до влажности 55%. В динамике процесса компостирования отбираются 3 пробы массой не менее 200 г (Таблица 2). В процессе компостирования раз в 3 суток определяется влажность и температура компостной смеси цифровым высокоточным многофункциональным прибором для исследования почвы КС-300 (Рис. 5). Данные вносятся в таблицу 1.

Таблица 1. Влажность и температура компостной смеси.

№	Дата	T, °C	Влажность, %	Дата	T, °C	Влажность, %
1						
2						



Рисунок 5. Цифровой высокоточный многофункциональный прибор для исследования почвы КС-300

**ВАЖНО!** В процессе созревания необходимо поддерживать влажность и аэрацию компостной смеси, для этого раз в 3 дня производится перемешивание и увлажнение в случае необходимости.

Для проведения анаэробного сбраживания подготавливают тару объемом не менее 1л, которая закрывается герметично и имеет в крышке выходной шланг, соединенный с мерным цилиндром, полностью заполненным водой (Рис. 6).

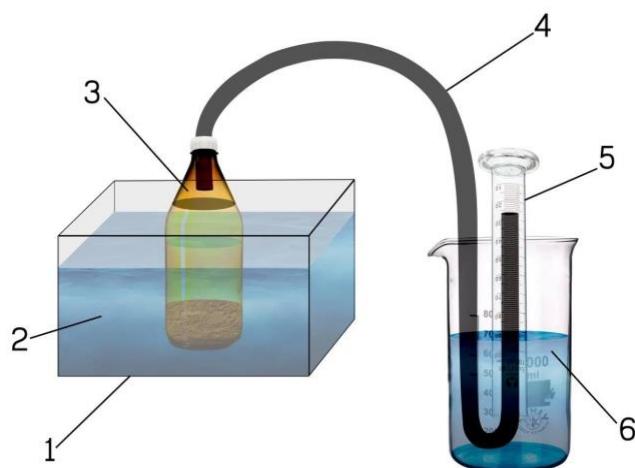


Рисунок 6. Схема анаэробного сбраживания, где 1 – водяная баня, 2 – водопроводная вода, 3 – герметичная тара с пробкой, 4 – выходной шланг, 5 – мерный цилиндр, 6 – стакан с водопроводной водой.

В такую ёмкость помещается смесь для анаэробного сбраживания, влажность смеси для анаэробного сбраживания доводится до 80-90% водопроводной водой. Емкость помещается в водяную баню, таким образом, чтобы температура смеси составляла  $36\pm2^{\circ}\text{C}$ . Емкость герметично закрывается, необходимо оставить от края горлышка бутылки порядка 1 см. Свободный конец трубки опускается в мерный цилиндр. Цилиндр помещается в стакан с водопроводной водой. В течение 1 недели необходимо отслеживать объем вытесненной воды, который говорит о выделении биогаза в процессе анаэробного сбраживания органических

отходов. Через 7 суток емкость открывают и полученную смесь используют для дальнейших проведений опытов.

Таблица 2. Перечень отобранных проб для оценки эффективности анаэробного сбраживания и компостирования органических отходов

№	Шифр пробы	Тип биологической обработки	Состав смеси	Время, сут.
1	АС	Аэробное сбраживание	Пищевые отходы	7
2	1КС	Исходная компостная смесь	Пищевые отходы + Куриный помет	0
3	2КС	Смесь через 2 недели компостирования		14
4	3КС	Смесь через 6 недель компостирования		42

## 2. Метод определения органического вещества

Принцип метода определения органического вещества при сжигании отходов в муфельной печи заключается в сухом сжигании образца при температуре 550 °С и определении в нём количества золы и органической части. При сжигании отходов, почвы и растительного материала органические соединения окисляются и улетучиваются в виде углекислого газа, воды и оксидов азота. Оставшийся нелетучий остаток (зола) содержит элементы, называемые зольными. Разница между весом сухого образца и зольным остатком составляет органическое вещество.

Для определения органического вещества необходимо:

1. Муфельная печь МИМП-17П;
2. Тигли керамические;
3. Весы II класса точности;
4. Шпатель для отбора проб.

Перед началом опыта следует определить изначальные массы керамических тиглей и записать их в таблицу с результатами (Таблица 3). В

каждый тигель навешивается максимальный объем исследуемой пробы. Далее проводится взвешивание исходной смеси с тиглем до прокаливания, определяют массу пробы, вносят ее в таблицу 3. Далее готовые тигли помещаются в муфельную печь (Рис. 7) при температуре 550°C на 3 часа.



Рисунок 7. Муфельная печь МИМП-17П

После охлаждения проводится взвешивание тиглей с остатками золы, результаты вносятся в таблицу 3. Из веса исходной смеси с тиглем до прокаливания вычитается вес тигля с остатком золы после прокаливания. Полученный остаток (потеря от прокаливания) показывает содержание органического вещества, которое выражается в процентах. Содержание органического вещества вычисляется по следующей формуле:

$$OB (\%) = 100 - \frac{(m_3 - m_T) * 100}{(m_{исх} - m_T)}$$

где  $m_{исх}$  – масса исходной компостной смеси с тиглем;  $m_T$  – изначальная масса тигля;  $m_3$  – масса золы; OB (%) – содержание органического вещества, выраженное в %.

Результаты следует записать в виде таблицы и представить данные в виде столбчатой диаграммы (Рис. 8).

Таблица 3. Определение органического вещества в пробах

№	Шифр пробы	Масса тигля, г	Масса тигля с пробой до прокаливания, г	Содержание органического вещества	
				г	%
1	AC				
2	1КС				
3	2КС				
4	3КС				

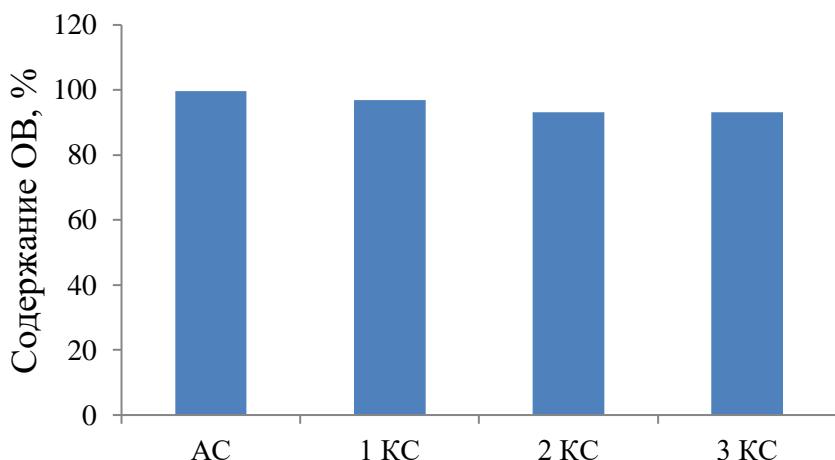


Рисунок 8. Содержанию органического вещества

### 3. Приготовление водных вытяжек из отходов для дальнейшего проведения биотестирования

Определение уровня токсичности с помощью методов биотестирования – это сложный процесс, включающий несколько ключевых этапов. Одним из главных ключевых этапов является подготовка водных вытяжек из исследуемых проб. Подготовка вытяжек необходима для преобразования водорастворимых токсикантов в формы, доступные для тестируемых организмов. В водную вытяжку могут переходить соединения тяжелых металлов, растворимые соли, органические вещества и многое другое. Существует множество стандартизованных методик получения водных вытяжек, выбор которых зависит от типа исследуемой среды и предполагаемых токсикантов.

Для подготовки водной вытяжки (Рис. 9) необходимо:

1. Дистиллированная вода;
2. Культивационная вода;
3. Коническая колба объемом 500 мл;
4. Шпатель для отбора проб;
5. Шейкер LOIP LS-110;
6. Фильтр обеззоленный «Белая лента»;
7. Воронка;
8. Коническая колба объемом 250 мл.

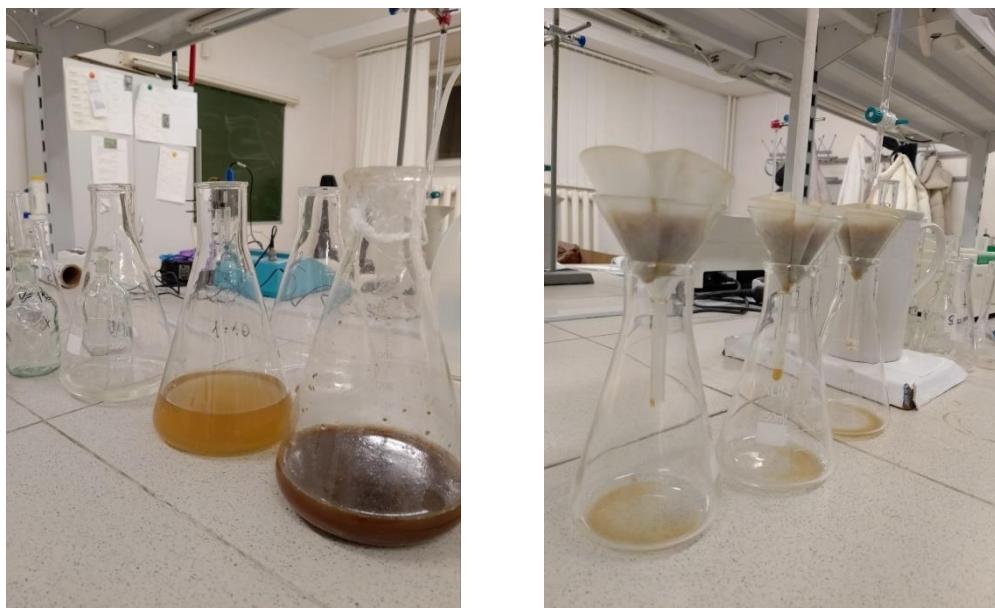


Рисунок 9. Приготовление водных вытяжек.

Водную вытяжку из отходов готовят из соотношения твердой фазы к жидкости равного 1:10. В качестве жидкости используется дистиллированная вода (pH 7,0 - 7,5). В колбу на 500 мл добавляется 20 г тестируемой пробы и 200 мл дистиллированной воды ( $d\text{H}_2\text{O}$ ). Приготовленная колба с суспензией устанавливается на шейкер (Рис. 10) и перемешивается в течение 30 минут, далее 10 минут отстаивается.



Рисунок 10. Шейкер LOIP LS-110

После перемешивания суспензия профильтровывается через складчатый фильтр, изготовленный из Фильтра обеззоленного «Белая лента». Полученный фильтрат разбавляют в 10 раз: 20 мл фильтрата + 180 мл культивационная воды (аквариумная вода). Разбавленную вытяжку используют для проведения последующих анализов:

1. Определение рН водных вытяжек (ГОСТ 26423-85);
2. Определения токсичности отходов по смертности цериодафний (ФР.1.39.2007.03221);
3. Определения токсичности отходов методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum Ehrenberg* (ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.13-06 (ПНД Ф 16.1:2:3.10-06));
4. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли *Chlorella vulgaris Beijer* для определения токсичности отходов (ПНД Ф ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04);
5. Биотестирование объектов с использованием семян редиса красного с белым кончиком *Raphanus sativus* (ISO 11269-2).

#### **4. Определения pH водных вытяжек (ГОСТ 26423-85)**

Для определения pH водных вытяжек [20] необходимо:

1. Дистиллированная вода;
2. Водная вытяжка;
3. pH-метр АНИОН 4100;
4. Буферные растворы (pH 4,01; 6,86 и 9,18);
5. Химический стакан на 50 мл;
6. Фильтровальная бумага.

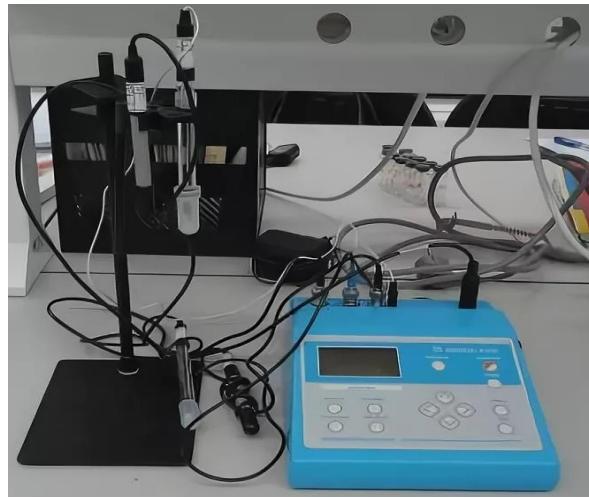


Рисунок 11. pH-метр АНИОН 4100

Перед работой следует прогреть pH-метр (Рис.11) достаточно 15 – 20 минут. Измеряется значение pH разбавленной вытяжки. Для этого разбавленную вытяжку объемом 15—20 см<sup>3</sup> сливают в химический стакан вместимостью 50 см<sup>3</sup> и используют для измерения pH. Далее в стакан помещаются электрод/электроды, термокомпенсатор (ВНИМАНИЕ! Не забудьте открыть отверстие на электроде перед использованием прибора, и закрыть его после использования!). Показания прибора считывают не ранее чем через 1,5 мин после погружения электродов в измеряемую среду, после превращения дрейфа измерительного прибора и записывают в таблицу 3. Во время работы настройку прибора периодически проверяют по буферному раствору с pH 6,86. Далее необходимо промыть электрод/электроды, термокомпенсатор водой и аккуратно просушить фильтровальной бумагой.

Результаты следует записать в виде таблицы 4 и представить данные в виде столбчатой диаграммы (аналогичной Рис. 8), где на оси X – цифровые значения pH, на оси Y – полученные значения pH разбавленных водных вытяжек.

Таблица 4. Значения pH разбавленных водных вытяжек

№	Шифр пробы	Значения pH водных вытяжек
1	AC	
2	1КС	
3	2КС	
4	3КС	

## 5. Определения токсичности отходов по смертности цериодафний

(ФР.1.39.2007.03221)

Принцип методики [11] основан на определении смертности цериодафний (*Ceriodaphnia affinis*, *Cladocera*, *Crustacea*) при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой среде, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль). Критерием острой токсичности служит гибель 50% и более цериодафний за 48 часов в исследуемой среде при условии, что в контроле гибель не превышает 10%. В ходе экспериментальных исследований может быть установлена:

- *Острая токсичность или средняя летальная концентрация отдельных веществ* (кратность разбавления вод, водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов, содержащих смеси веществ), вызывающую гибель 50 % и более тест-организмов;
- *безвредная концентрация отдельных веществ*, которая не вызывает острого токсического эффекта (кратность разбавления вод или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов, содержащих смеси веществ) и приводит к гибели не более 10 % тест-организмов.

Для проведения биотестирования на цериодафниях необходимо:

1. Культивационная вода;
2. Пробирки объемом на 50 мл;
3. Химический стакан на 30 мл;
4. Пипетка;
5. Штатив для пробирок;
6. Культура цериодафний – не более 24-часового возраста (Рис. 12).

Пробы разбавленной в 10 раз вытяжки (подготовленные в п. 3) в объеме 30 мл разливаются в пробирки в трехкратной повторности и сопровождаются одной серией контроля. В качестве контроля используется культивационная вода. В каждую пробирку помещаются по пять цериодафний (не более 24-часового возраста). Цериодафнии отлавливаются из химического стакана пипеткой. Посадку раков следует начинать с контрольной серии. Учет смертности цериодафний в опыте и контроле проводится через 48 часов. Неподвижных особей следует считать погибшими, если они не начинают двигаться в течение 15 секунд после легкого покачивания пробирки.

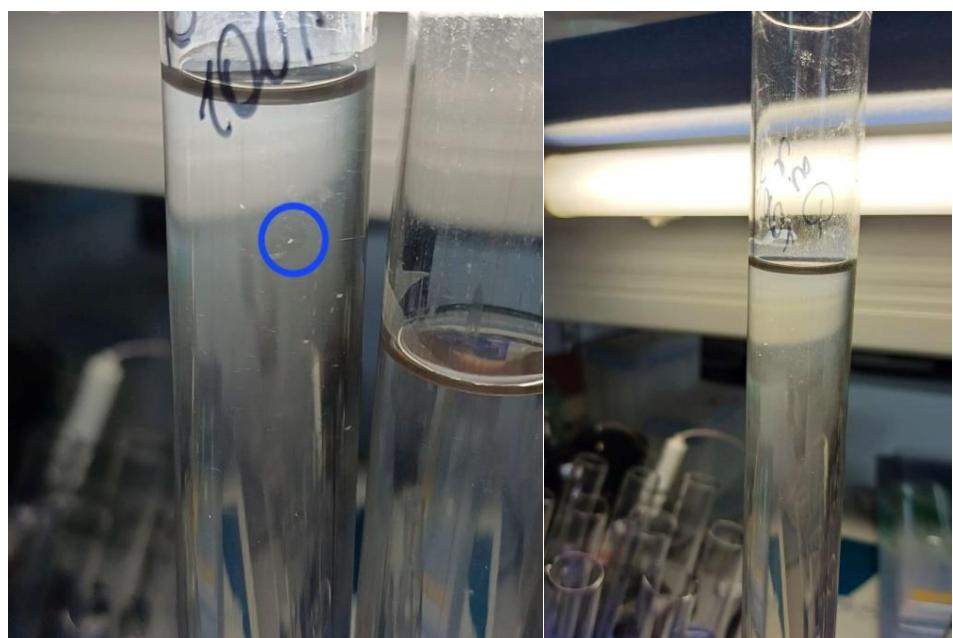


Рисунок 12. Культура цериодафний

Для определения острой токсичности исследуемого вещества, рассчитывается процент выживших цериодафний в тестируемой воде ( $A, \%$ ) по сравнению с контролем по формулам:

$$X_{\text{контр}} = \frac{(x_1+x_2+x_3+\dots+x_n)}{n};$$

$$X_{\text{оп}} = \frac{(x_1+x_2+x_3+\dots+x_n)}{n};$$

$$A (\%) = \frac{100 * X_{\text{оп}}}{X_{\text{контр}}}$$

где  $X_{\text{контр}}$  – среднее значение контроля;  $x_n$  – количество выживших цереодафний в  $n$ -ой повторности;  $n$  – количество параллельных определений;  $X_{\text{оп}}$  – среднее опытное значение;  $A (\%)$  – процент выживших особей от контроля.

По полученным результатам заполняется таблица 5 и строится столбчатая диаграмма (аналогично Рис. 8). По оси Y откладывается процент выживших особей от контроля, по оси X откладывается наименование образца.

Таблица 5. Определение токсичности по смертности цериодафний

№	Шифр пробы	Повторности	Поместили	Выжило	Ср. значение помещенных	Ср. значение выживших	A, %
1	AC	1.1.					
		1.2.					
		1.3.					
2	1КС	2.1.					
		2.2.					
		2.3.					
3	2КС	3.1.					
		3.2.					
		3.3.					
4	3КС	4.1.					
		4.2.					
		4.3.					
5	Контроль	5.1.					
		5.2.					
		5.3.					

## **6. Определения токсичности отходов методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramcium caudatum* Ehrenberg ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.13-06 (ПНД Ф 16.1:2:3.10-06)**

Методика [19] основана на определении смертности парамеций при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемых растворах по сравнению с контролем. Острое токсическое действие исследуемой пробы на парамеций определяют по их смертности (летальности) за определенный период экспозиции. Критерием острой токсичности служит гибель 50% и более парамеций за 24 часа (в нашем случае 30 минут) в исследуемой пробе, при условии, что в контроле гибель не превышает 10% тест-организмов.

Для проведения биотестирования на инфузориях необходимо:

1. Культивационная вода;
2. Планшета с лунками;
3. Бинокуляр (Микромед МС-2 Zoom);
4. Химический стакан на 30 мл;
5. Капиллярная пипетка;
6. Штатив для пробирок;
7. Культура инфузорий (Рис. 13)



Рисунок 13. Культура инфузорий (вид под бинокуляром)

Для проведения биотестирования в данном опыте используется планшета с лунками (Рис. 14а). Культуру инфузорий следует переносить в лунки с помощью бинокуляра. Перенос производится с помощью капиллярной пипетки. В каждую лунку помещаются по 10-12 особей. **ВАЖНО!** При помещении тест-организмов количество культуральной жидкости в лунке не должно превышать  $0,02 \text{ см}^3$ . После помещения инфузорий в лунки - в контроль приливается по  $0,6 \text{ см}^3$  культивационной воды, в опытные - по  $0,6 \text{ см}^3$  тестируемой пробы. Микроаквариум оставляют на 30 минут. По истечении этого времени производится подсчет выживших и погибших особей под бинокуляром (Рис. 14б).



Рисунок 14. Оборудование и расходные материалы, необходимые для проведения биотестирования с инфузориями (а - планшета с лунками, б – бинокуляр)

Для определения острой токсичности исследуемого вещества, рассчитывается процент выживших инфузорий в тестируемой пробе ( $A, \%$ ) по сравнению с контролем по формулам:

$$X_{\text{контр}} = \frac{(x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n)}{n},$$

$$X_{\text{оп}} = \frac{(x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n)}{n},$$

$$A (\%) = \frac{100 \cdot X_{оп}}{X_{контр}}$$

где  $X_{контр}$  – среднее значение контроля;  $x_n$  – количество выживших цероадафний в  $n$ -ой повторности;  $n$  – количество параллельных определений;  $X_{оп}$  – среднее опытное значение;  $A (\%)$  – процент выживших особей от контроля.

По полученным результатам заполняется таблица 6 и строится столбчатая диаграмма (аналогично Рис. 8). По оси Y откладывается процент выживших особей от контроля, по оси X откладывается наименование образца.

Таблица 6. Определение токсичности по смертности инфузорий

№	Шифр пробы	Повторности	Поместили	Выжило	Ср. значение помещенных	Ср. значение выживших	A, %
1	AC	1.1.					
		1.2.					
		1.3.					
2	1КС	2.1.					
		2.2.					
		2.3.					
3	2КС	3.1.					
		3.2.					
		3.3.					
4	3КС	4.1.					
		4.2.					
		4.3.					
5	Контроль	5.1.					
		5.2.					
		5.3.					

## 7. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли *Chlorella vulgaris Beijer* для определения токсичности отходов (ПНД Ф ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04)

Методика [18] основана на регистрации различий в величине оптической плотности тест-культуры водорослей хлореллы *Chlorella vulgaris Beijer*, выращенной на среде, не содержащей токсических веществ (контроль) и тестируемых проб, где эти вещества могут присутствовать (опыт):

поверхностные пресные, грунтовые, питьевые, сточные воды, водные вытяжки из почвы, осадки сточных вод и отходы производства и потребления. В нашем случае тестируются исходная смесь органических отходов, компостная смесь в динамике процесса компостирования и дигестат после анаэробного сбраживания. Измерение оптической плотности суспензии водорослей позволяет оперативно контролировать изменение численности клеток в контрольном и опытном вариантах острого токсикологического эксперимента, проводимого в специализированном многокюветном культиваторе. Критерием токсичности является 20% и более подавление роста или 30% и более стимуляция роста культуры водорослей, выращиваемой в течение 22 часов.

Для проведения биотестирования на тест-культуре водорослей необходимо:

1. Дистиллированная вода;
2. Культивационная вода;
3. Тест-культура водорослей хлореллы *Chlorella vulgaris Beijer*;
4. Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ (Санкт-Петербург, Россия);
5. Кюветы толщиной 10 мм;
6. Культиватор КВ-05;
7. Культиватор КВМ-05;
8. Марля;
9. Среда Тамия 50%;
10. Химический стакан на 100 мл;
11. Флаконы пенициллиновые;
12. Полиэтиленовые крышки;

### *Приготовление среды Тамия (50%)*

В 1 л воды растворяется 2,5 г нитрата калия ( $\text{KNO}_3$ ), 1,25 г сульфата магния семиводного ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 0,625 г фосфата калия двухзамещенного трехводного ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), 0,0015 г железа лимоннокислого (растворять при кипячении), 0,5 мл раствора микроэлементов А и 0,5 мл раствора микроэлементов Б.

### *Приготовление раствора микроэлементов А*

В 1 л воды растворяется 2,86 г борной кислоты ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), 1,81 г хлорида марганца четырехводного ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), 0,222 г сульфата цинка пятиводного ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).

### *Приготовление раствора микроэлементов Б*

В 1 л воды растворяется – 17,64 г оксида молибдена ( $\text{MoO}_3$ ), 22,96 г ванадиата аммония ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) (растворять при нагревании)

Каждый раствор отдельно стерилизуется кипячением в течение 30 минут, плотно закрывается и хранится в холодильнике не более 3 месяцев при температуре от 2 до 4 °C.

### *Проведение биотестирования*

Для биотестирования используется чистая культура водоросли *Chlorella vulgaris*, находящаяся в экспоненциальной стадии роста (через одни сутки после пересева в культиватор КВ-05). Перед биотестированием культура водоросли *Chlorella vulgaris*, выращенная на 50%-ной среде Тамия в культиваторе КВ-05 (Рисунок 10), профильтровывается через 4 слоя марли и разбавляется средой Тамия 50% до оптической плотности  $D=0,125 \pm 0,005$ . Регистрация оптической плотности культуры тест-объекта проводится с помощью спектрофотометра ПЭ-5300ВИ (Рисунок 15) в кювете толщиной 10 мм при длине волны 670 нм.



Рисунок 15. Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ

Культура водорослей в объеме 2 мл смешивается с 48 мл тестируемой вытяжки в химическом стакане на 100 мл. Далее содержимое стакана разливается по 6 см<sup>3</sup> в пенициллиновые флаконы в трех кратной повторности, включая контрольную пробу с культивационной водой. Все флаконы закрываются чистыми полиэтиленовыми крышками и делаются отверстия диаметром около 6 мм, для обеспечения оптимального газообмена со средой и предотвращения излишнего испарение культуральной жидкости. После этого пенициллиновые флаконы устанавливаются в культиватор КВМ-05 (Рис. 16) при температуре 36±0,5°C и средней интенсивности света – 60 Вт/м<sup>2</sup>. Флаконы загружаются в приостановленную кассету по ходу ее вращения, т.е. против часовой стрелки.



Рисунок 16. Культиваторы КВМ-05 и КВ-05

Измерение оптической плотности суспензии водорослей проводится через 22 часа после культивирования на спектрофотометре в кювете толщиной 10 мм, при длине волны 670 нм. О степени острого токсического воздействия тестируемой воды на водоросли судят по разнице величины оптической плотности тест-культуры в контрольных и опытных вариантах после 22 часов выращивания в культиваторе КВМ-05. С этой целью для каждого опытного образца по результатам трех параллельных определений вычисляют среднее значение оптической плотности для каждого варианта.

$$X_i = \frac{(x_1+x_2+x_3+\dots+x_n)}{n};$$

где  $X_i$  - среднее значение оптической плотности в  $n$ -ом параллельном эксперименте,  $n$  – количество параллельных определений.

По полученным результатам заполняется таблица 7 и строится столбчатая диаграмма (аналогично Рис. 8), где по оси Y откладываются цифровые значения, по оси X откладываются наименования образца.

Таблица 7. Данные оптической плотности тест-культуры водорослей

№	Шифр пробы	Повторности	Оптическая плотность тест-культуры	Ср. значение оптической плотности тест-культуры
1	АС	1.1.		
		1.2.		
		1.3.		
2	1КС	2.1.		
		2.2.		
		2.3.		
3	2КС	3.1.		
		3.2.		
		3.3.		
4	3КС	4.1.		
		4.2.		
		4.3.		
5	Контроль	5.1.		
		5.2.		
		5.3.		

## **8. Биотестиование объектов с использованием семян редиса красного с белым кончиком *Raphanus sativus* (ISO 11269-2)**

Принцип методики [21] основан на оценке влияния водного экстракта или водных растворов на интенсивность прорастания семян редиса *Raphanus sativus* (Сорт «Красный с белым кончиком»).

Для проведения биотестирования на редисе необходимо:

1. Дистиллированная вода;
2. Культивационная вода;
3. Чашки Петри;
4. Диски фильтровальной бумаги;
5. Семена редиса;
6. Водная вытяжка;
7. Линейка.

Опыт проводится в трехкратной повторности. В чашки Петри раскладываются диски фильтровальной бумаги диаметром 9 см. В каждую чашку равномерно вносятся по 10 семян, затем заливаются по 5 мл исследуемых вытяжек или исследуемых растворов (Рис. 17). В качестве контроля используют дистиллированную воду или культивационную воду, в зависимости от того на какой воде были приготовлены растворы или водные вытяжки. Уровень жидкости в чашках должен быть ниже поверхности семян. Чашки закрываются и оставляются при температуре 20 °C. Через 3 суток измеряется длина корней проростков. У не проросших семян длину корня принимают равной нулю.

Уровень фитотоксичности (T,%) рассчитывается по следующей формуле:

$$T = \frac{X_{\text{контр}} - X_{\text{оп}}}{X_{\text{контр}}} * 100$$

где  $X_{\text{контр}}$  – среднее значение контроля;  $X_{\text{оп}}$  – среднее опытное значение; T (%) – уровень фитотоксичности.

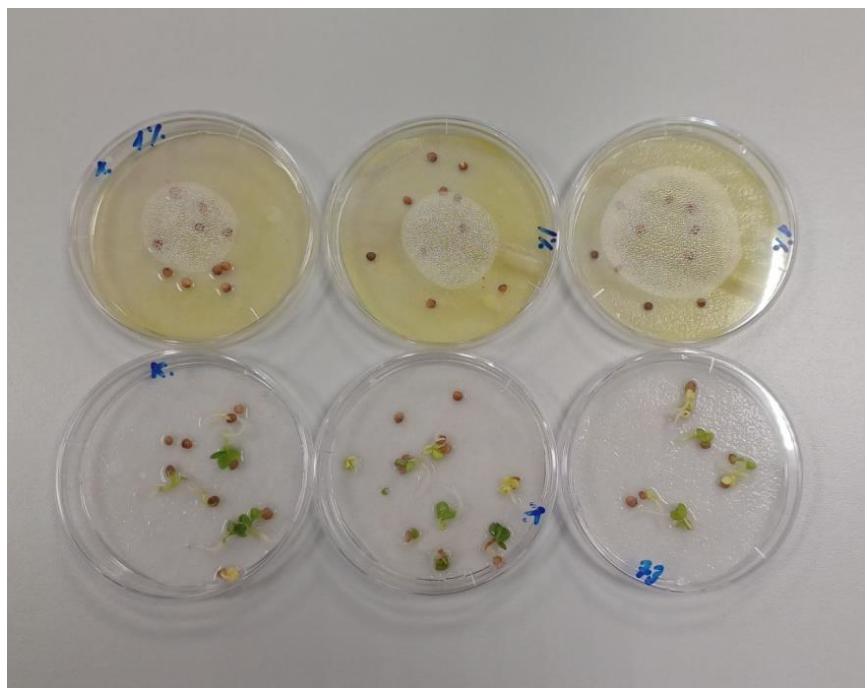


Рисунок 17. Чашки Петри с редисом

По полученным результатам заполняется таблица 8 и строится столбчатая диаграмма (аналогично Рис. 8), где по оси Y откладываются полученные уровни фитотоксичности, по оси X откладываются наименования образца.

Таблица 8. Данные по биотестированию водных вытяжек с использованием семян редиса

№	Шифр пробы	Среднее опытное значение	T, %
1	AC		
2	1КС		
3	2КС		
4	3КС		
5	Контроль		

## **ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ ОТЧЁТА**

В конце проделанной работы необходимо подготовить отчёт, который должен состоять из следующих пунктов:

1. Титульный лист
2. Содержание
3. Объекты и методы исследования
4. Результаты и обсуждения.
5. Выводы

Примечание: В пункт 4 необходимо включить все таблицы и диаграммы, полученные в процессе выполнения экспериментов. В выводах необходимо отразить ваши предположения, объясняющие полученные результаты.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чернова Р.К., Козлова Л.М., Шестопалова Н.Б., Ръянова Ю.О. Тест-методы определения некоторых органических токсикантов в водных средах (обзор) // Изв. Сарат. ун-та Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2008. №2.
2. Курочкина Г.Н. Физико-химическое исследование раннего загрязнения системы почва-растение органическими токсикантами // МНИЖ. 2014. №10-1 (29).
3. Гладких В.Д. Фосфорорганические соединения. Клиника, диагностика и лечение / под ред. проф. В.Д. Гладких — М.: Комментарий, 2019. 192 с.
4. Цибарт, А.С. Полициклические ароматические углеводороды в почвах: источники, поведение, индикационное значение (обзор) / А.С. Цибарт, Геннадиев А.Н. // Почвоведение. 2013. № 7. 788 с.
5. Никифорова Е.М., Алексеева Т.А. Полициклические ароматические углеводороды в почвах придорожных экосистем Москвы // Почвоведение. 2002. № 1. 47–58 с.
6. Янин В.С. Основы экологической токсикологии: учеб. пособие – 4-е Изд., испр. и доп. – Пенза: ПГУАС, 2014. 196 с.
7. Заболотских В.В. Основы токсикологии: учебно-методическое пособие / В.В. Заболотских – Тольятти: ТГУ, 2009. 643 с.
8. Шурубор Е.И. Полициклические ароматические углеводороды в системе «почва–растение» района нефтепереработки (Пермское Прикамье) // Почвоведение. 2000. № 12. 1509-1514 с.
9. Папуниди К.Х. Микотоксины (в пищевой цепи): монография / К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, В.И. Фисинин, А.И. Никитин, Э.И. Семёнов. – 2-е изд., перераб. и доп. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2017. 188 с.
10. Pleadin J., Frece J., Markov K. Mycotoxins in food and feed //Advances in food and nutrition research. 2019. Т. 89. 297-345 с.

11. ФР.1.39.2007.03221 Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодофний.
12. Смирнова В.М. и др. Токсикология: промышленные и экологические аспекты: учеб. пособие / Нижегород. гос. техн. ун-т им. Р.Е. Алексеева. – Нижний Новгород, 2019. 240 с.
13. Звягинцева А.В., Павленко А.А. Основы токсикологии: учеб. Пособие /А.В. Звягинцева, А.А. Павленко. Воронеж: ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный технический университет», 2012. 251 с.
14. Улахович Н.А. и др. Экотоксиканты: Учебно-методическое пособие для лекционного курса «Химия в экологии» / Н.А. Улахович, М.П. Кутырева, Э.П. Медянцева, С.С. Бабкина. – Казань: Издательство Казанского государственного университета, 2010. 56 с.
15. Теплая Г.А. Тяжелые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (обзор литературы) // Астраханский вестник экологического образования, №1(23), 2013.
16. Медведев И.Ф., Деревягин С.С. Тяжелые металлы в экосистемах / Саратов: «Ракурс», 2017. 178 с.
17. ГОСТ 12.0.003-74. Система стандартов безопасности труда. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация. М: Изд-во стандартов, 1974.
18. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 (ПНД Ф 16.1:2:3.7-04) Методика измерений оптической плотности культуры водоросли Хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления.
19. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.13-06 (ПНД Ф 16.1:2:3.10-06) Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных вод, сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с

- использованием равноресничных инфузорий *Paramecium Caudatum Ehrenberg*.
20. ГОСТ 26423-85. Почвы. Методы определения удельной электрической проводимости, pH и плотного остатка водной вытяжки. – М., 1985. 7 с.
  21. ISO 11269-2 Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. [Incorporating corrigendum, June 2009].
  22. Автоматизация процесса анаэробного сбраживания органических отходов / И.Х. Гайфуллин, Б.Г. Зиганшин, А.И. Рудаков, Ю.Х. Шогенов // Агроинженерная наука XXI века: Научные труды региональной научно-практической конференции, Казань, 18 января 2018 года. – Казань: Казанский государственный аграрный университет, 2018. 339-343 с.
  23. Ульянова, О.А. Гумификация коры разных видов деревьев и удобрительных композиций на ее основе / О.А. Ульянова, В.В. Чупрова // Агрохимия. – 2016. № 5. 11-20 с.
  24. Гузенко К.В. Комposting органических отходов // Инновационный вектор развития науки: сборник. 2014. 15 с.
  25. Промышленное компостирование органических отходов как фактор развития зеленой экономики / Т.Н. Ашурбекова, К.Ю. Козенко, Д.С. Агаданов, М.Р. Магомедов // Известия Дагестанского ГАУ. 2019. № 3(3). 13-18 с.
  26. Андреева И.В., Байбеков Р.Ф., Злобина М.В. Фиторемедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами // Природообустройство. 2009. №5.
  27. Гончарова, Н.В. Фиторемедиация: новая стратегия использования растений для очистки почвенного покрова / Н. В. Гончарова // Экологический вестник. 2010. № 4. 5-13 с.
  28. Сизенцов А.Н., Сальникова Е.В. Бактериальная ремедиация и перспективы ее использования (обзор) // Экосистемы. 2024. №38. 150-165 с.

29. Бабаев Э.Р., Муштагова Ф.Г. Применение микроорганизмов в процессах биоремедиации // НефтеГазоХимия. 2024. №3-4. 49-55 с.