

Подписано электронной подписью:
Вержицкий Данил Григорьевич
Должность: Директор КГПИ КемГУ
Дата и время: 2025-04-23 00:00:00

Федеральное Государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Кемеровский государственный университет»
Новокузнецкий институт (филиал)
Кафедра естественнонаучных дисциплин

Горохова Л.Г., Жукова А.Г.

ОСНОВЫ ТОКСИКОЛОГИИ

*Методические указания к практическим занятиям по дисциплине
для обучающихся по направлению подготовки
44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки)*



Новокузнецк
2020

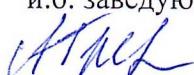
УДК 615.91
ББК 52.84
Г74

Горохова Л.Г., Жукова А.Г.

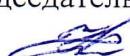
Методические указания к практическим занятиям по дисциплинам «Основы токсикологии» и «Основы токсикологии и химической безопасности» для бакалавров, обучающихся по направлению подготовки 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки) / Л.Г. Горохова, А.Г. Жукова; Новокузнецк. ин-т. (фил.) Кемеров. гос. ун-та. – Новокузнецк: НФИ КемГУ, 2020 - 22с.

В настоящих методических указаниях для студентов-бакалавров направления подготовки 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки) представлен теоретический материал и рекомендации по выполнению практических занятий.

Рекомендовано
на заседании кафедры
естественнонаучных дисциплин
27 августа 2020г.
и.о. заведующего кафедрой
А.Г. Жукова



Утверждено
методической комиссией факультета
физической культуры, естествознания и
природопользования
«05» октября 2020г.
Председатель комиссии



Н.Т. Егорова

УДК 615.91
ББК 52.84
Г74

© Горохова Л.Г., Жукова А.Г.
© Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Кемеровский государственный университет»
Новокузнецкий институт (филиал), 2020

Текст представлен в авторской редакции

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
Методические рекомендации для проведения практических занятий.....	5
Работа 1. Изучение основных токсикометрических параметров химических веществ и определение их пороговых концентраций.....	5
Работа 2. Изучение кумулятивного эффекта вредных веществ по состоянию хвои сосны.....	11
Работа 3. Определение основных токсикологических параметров при действии солей тяжелых металлов на прорастание семян.....	14
Работа 4. Влияние времени воздействия хлористого натрия на активность движения одноклеточных.....	15
Работа 5. Определение устойчивости клеток различных растений к обезвоживанию серной кислотой.....	15
Работа 6. Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков.....	16
Работа 7. Нейтрализация токсического действия фенола янтарной кислотой.....	17
Работа 8. Нейтрализация действия тяжелых металлов на прорастание семян с помощью комплексона Трилон Б.....	18
Работа 9. Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы.....	18
Работа 10. Влияние солей тяжелых металлов на гликолитическую активность дрожжей.....	19
Вопросы для зачета.....	20
Список литературы.....	21

Введение

В практической деятельности учителю нередко приходится иметь дело с острыми бытовыми отравлениями, которые чаще возникают в результате случайного, а иногда и умышленного приема химических веществ, обладающих достаточно высокой активностью. В настоящее время в связи с расширением зоны применения и созданием новых химических веществ, а также увеличением объема и ассортимента лекарственных средств (известно более 300 веществ, которые могут вызвать острые отравления) возрастает значение изучения токсикологии — науки об острых и хронических отравлениях.

Особую актуальность проблема острых и хронических отравлений приобрела в последние десятилетия вследствие накопления в окружающей современного человека естественной среде огромного количества различных химических препаратов — около 6 млн. наименований.

От того, насколько быстра, эффективна и целенаправленно будет оказана первая помощь пострадавшему, как правило, зависит исход отравления. Современные мероприятия в большинстве случаев гарантируют жизнь человеку, получившему отравление даже несколькими смертельными дозами, запоздалая же и нерациональная помощь оказывается неэффективной, в менее тяжелых случаях могут развиться серьезные осложнения. В то же время, эффективность неотложных мероприятий при отравлениях в свою очередь зависит от того, насколько быстро будет установлена природа токсичного агента и патогенез основных расстройств.

Токсикология как наука занимает важное место в системе биологических, медицинских и военных знаний. Количество пострадавших от различных отравлений, к сожалению, имеет тенденцию к росту, а летальность от них остается довольно высокой. Знание основ токсикологии, умение оказать первую доврачебную помощь при отравлении необходимо любому человеку. Данная дисциплина требует знаний в области химии, физиологии, биохимии основных обменных процессов организма человека.

Цель преподавания дисциплины — формирование у студентов знаний, умений и навыков в оценке токсичности основных химических веществ, встречающихся в окружающей среде, а также изучения процессов взаимодействия организма и яда.

Настоящее пособие составлено на основе типовой рабочей программы по основам токсикологии для студентов, обучающихся по профилям «Биология и химия», «География и безопасность жизнедеятельности» и направлено на оказание помощи студентам и преподавателям в организации и обеспечении наиболее рационального унифицированного подхода к изучению и преподаванию дисциплины.

В учебном пособии представлены методические разработки для студентов, содержащие материалы по организации практических занятий. Разделы завершаются подробным перечнем вопросов к зачету для контроля уровня усвоения предлагаемой информации. В конце пособия даны задания для индивидуальной работы и список рекомендуемой основной и дополнительной литературы.

Методические рекомендации для проведения практических занятий

РАБОТА 1. Изучение основных токсикометрических параметров химических веществ и определение их пороговых концентраций

Цель работы: изучить основные токсикометрические параметры и методы определения пороговых концентраций по влиянию веществ на органолептические свойства воды и научиться определять предельную концентрацию вещества в воде.

Приборы и материалы: колбы стеклянные (4-5шт), цилиндры стеклянные (4-5шт), стаканы лабораторные емкостью 500мл (4-5шт), толуол (или другое химическое вещество с характерным запахом).

Теоретическая часть

Раздел токсикологии, в рамках которого совершенствуется методология и осуществляется оценка токсичности химических веществ, называется "токсикометрия".

Результаты токсикометрических исследований в медицинской практике используют для разработки системы нормативных и правовых актов, обеспечивающих химическую безопасность населения; оценки риска действия ксенобиотиков в условиях производства, экологических и бытовых контактов с токсикантами; сравнительной оценки эффективности средств и методов обеспечения химической безопасности населения и т.д.

Основные токсикометрические параметры приведены в табл. 1.1.

Табл. 1.

Группа параметров	Название или обозначение параметра	Характеристика параметра	Единицы измерения
Общие	Lim_{ac}	Порог однократного (острого) действия токсического вещества – минимальная пороговая доза, вызывающая изменения показателей жизнедеятельности организма, выходящие за пределы приспособительных функций организма.	мг/кг
	$DL_{50}(DL_{100})$	Среднесмертельная (смертельная) доза, вызывающая гибель 50% (100%) подопытных животных при определенном способе введения (внутрь, на кожу и т.д., кроме ингаляции) в течение 2-х недель последующего наблюдения	мг/кг
	$CL_{50} (CL_{100})$	Концентрация (доза), вызывающая гибель 50% (100%) подопытных животных при ингаляционном воздействии	мг/м ³

	ПДК	Предельно допустимая концентрация вещества	мг/м ³
	ОБУВ	Ориентировочный безопасный уровень воздействия вещества	мг/м ³
Клини-ческие	Условная смертельная доза	Минимальная доза, вызывающая смерть человека при однократном воздействии данного вещества	мг/кг
	Пороговая концентрация ядов в крови	Концентрация яда в крови, при которой обнаруживаются первые симптомы отравления	мг/мл
	Критическая концентрация	Концентрация яда в крови, соответствующая развернутой клинической картине отравления	мг/мл
	Смертельная концентрация	Концентрация яда в крови, при которой обычно наблюдается смертельный исход	мг/мл

Особенность гигиенического нормирования химических веществ в воде заключается в том, что при установлении ПДК учитывается несколько признаков вредности: органолептический, токсикологический и общесанитарный. Минимальная из двух (или трех) величин рекомендуется как ПДК с указанием лимитирующего признака вредности.

Для определения оптимального объема исследований служит схема последовательного (этапного) нормирования, состоящая из следующих этапов:

1. Классификация опасности веществ, загрязняющих воду, которая осуществляется по ряду критериев (табл. 2.)

1.1. Основной критерий - соотношение между признаками вредности. Если пороговые концентрации по органолептическому ($\text{ПК}_{\text{опр.}}$) или общесанитарному ($\text{ПК}_{\text{сан.}}$) признаку вредности существенно ниже, чем $\text{ПК}_{\text{хр.}}$ по токсикологическому признаку вредности, вещество рассматривается как мало опасное (4-й класс) или умеренно опасное (3-й класс).

1.2. Второй критерий - абсолютная величина $\text{ПК}_{\text{хр.}}$: чем ниже величина $\text{ПК}_{\text{хр.}}$, тем опаснее вещество.

1.3. Третий критерий – соотношение $\text{DL}_{50}/\text{ПД}_{\text{хр.}}$ - количественный критерий кумулятивных свойств веществ. Используется для уточнения 1—3 классов опасности, установленных согласно п. 1.1 и с учетом положения, согласно которому вещество тем более опасно, чем более выражена его способность к кумуляции.

1.4. Четвертый критерий - способность веществ вызывать отдаленные эффекты - обусловлен тем, что отдаленные эффекты следует рассматривать как более опасное, по сравнению с общетоксическим, действие. По этому критерию оцениваются вещества при уточнении 1—3 классов опасности.

1.5. Пятый критерий - стабильность вещества. С учетом стабильности, относительной токсичности и опасности вещества и продуктов его

трансформации могут быть изменены класс опасности, величина норматива и рекомендации к методам контроля.

Таблица 2

Классификация опасности веществ при этапном обосновании ПДК веществ в воде

Последовательность оценки опасности веществ	Критерий	Класс опасности			
		Первый (чрезвычайно опасные)	Второй (высоко-опасные)	Третий (умеренно опасные)	Четвертый (малоопасные)
1	$\text{ПК}_{\text{хр.}}/\text{ПК}_{\text{орг.}}$ ($\text{ПК}_{\text{сан.}}$)	-	< 10	10—100	> 100
2	$\text{ПК}_{\text{хр.}}$, мг/л	< 0,01	0,01—1,0	> 1,0—100	> 100
3	$\text{DL}_{50}/\text{ПД}_{\text{хр.}}$	$> 10^5$	$10^5—10^4$	$< 10^4—10^3$	$< 10^3$
4	$\text{ПД}_{\text{общ.}}/\text{ПД}_{\text{отд.}}$	> 10	4—10	> 1-3	0,1-1
5	стабильность	> 30 суток	1—30 суток	1—24 часа	< 60 мин

2. Схема последовательного обоснования ПДК веществ состоит из шести стадий, представленных в табл. 3.

Таблица 3

Схема обоснования ПДК веществ в воде

№№	Название стадии	Объем исследований	Полученная информация	Класс опасности, для которого достаточна эта стадия
	2	3	4	5
1	Принятие предварительного решения	Анализ литературы. Изучение технологии производства и/или применения. Ориентировочный расчет гигиенических параметров по физико-химическим параметрам, ПДК в других объектах и других странах	Расчетные DL_{50} . Выбор схемы разработки ПДК, степень приоритетности вещества	
2	Ускоренная оценка	Оценка влияния на органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов, выявление способности к трансформации, острые токсикологические опыты,	$\text{ПК}_{\text{орг.}}$, $\text{ПК}_{\text{сан.}}$, DL_{50} , TL_{50} , расчетные $\text{ПД}_{\text{хр.}}$, класс опасности, ПДК, способность вещества к трансформации, класс опасности по	4

		в т. ч. для определения видовых, половых и возрастных различий чувствительности к веществу. Расчет параметров хронической токсичности по DL_{50} , TL_{50} и смешанным математическим моделям. Определение класса опасности	трансформации $K_{кум}$.	
3	Экспресс-эксперимент	Подострый опыт. Изучение гонадотоксичности по функциональным показателям, эмбриотоксичности, мутагенного эффекта в скрининговых опытах. Оценка кожно-резорбтивного действия. Прогноз параметров хронической токсичности и определение класса опасности вещества. Идентификация продуктов трансформации	$ПД_{пэк}$, пороговые дозы отдаленных эффектов, расчетные МНД, класс опасности, ПДК	3
4	Хронический опыт	Хронический опыт для изучения общетоксического действия. Оценка мутагенного, гонадотоксического эффектов. Оценка опасности продуктов трансформации. Расчет коэффициентов запаса, экстраполяция данных с животных на человека	$ПД_{общ.}$, $МНД_{общ.}$, $ПД_{отд.}$, $МНД_{отд.}$, K_3 . Сравнительная токсичность продуктов трансформации. Класс опасности, ПДК	1—2
5	Специальные исследования	Углубленное изучение канцерогенного, атеросклеротического, аллергенного эффектов. Дополнительные исследования гонадо-, эмбриотоксического,	$ПД_{хр.}$ по специфическим и отдаленным эффектам, ПДК	1

		мутагенного эффектов. Обоснование ПДК		
6	Эпидемиологические исследования	Связь состояния здоровья и условий водопользования населения с содержанием вещества и/или продуктов его трансформации в воде	Корректировка ПДК, Оценка эффективности гигиенических водоохраных мероприятий	1—4

Экспериментальная часть

Определение пороговых концентраций по влиянию веществ на органолептические свойства воды.

Органолептические свойства воды - воспринимаемая рецепторами человека совокупность показателей качества воды: запах, привкус, окраска, прозрачность (мутность), наличие пленок или пены на поверхности воды, посторонних включений, плавающих примесей, осадка. Многие вредные вещества способны изменять органолептические свойства воды, поэтому более чем для половины изученных веществ эти свойства были определяющими при установлении их ПДК в воде. Целью изучения влияния веществ на органолептические свойства воды является установление пороговых концентраций ($ПК_{орг.}$). Оценка интенсивности изменений органолептических свойств осуществляется людьми (дегустаторами), предпочтительно специалистами, имеющими опыт в данной области, нежелательно участие курящих лиц.

В эксперименте используются только безопасные для здоровья человека концентрации, которые выбираются по литературным данным.

Последовательность проведения эксперимента

При проведении исследований помещение должно быть хорошо проветрено, без посторонних запахов. Дегустаторы допускаются к оценке воды через 1,5—2 часа после приема пищи, воды. Предварительно они должны быть ознакомлены с характером запаха и привкуса исследуемой воды. Характер запаха определяется при температуре 20 и 60 °C, привкуса - при 20 и 40 °C.

1. Для проведения эксперимента готовится исходный истинный раствор вещества, обладающий отчетливым запахом или привкусом. Ряд исследуемых образцов готовится путем последовательного разведения каждой пробы в 2 раза. Определение ведут в направлении от меньшей концентрации к наибольшей в ряду исследуемых проб, сопоставляя каждый образец с контрольной пробой. Опыты проводят в несколько серий с различными концентрациями вещества. Группа дегустаторов должна состоять не менее, чем из пяти-семи человек.

2. Для определения запаха воды используются широкогорлые с притертыми пробками колбы объемом 500 мл, в которые наливают по 200 мл исследуемого образца. В качестве контрольной используется колодезная, ключевая или дехлорированная водопроводная вода, не имеющая не свойственного ей запаха (привкуса). Колбу с 200 мл исследуемого образца закрывают пробкой и перемешивают ее содержимое вращательными движениями, после чего колба

открывается и дегустатор делает несколько глубоких вдохов, определяя характер и интенсивность запаха. Запах характеризуется качественно в зависимости от его вида, например, ароматический, нефтепродуктов, гнилостный, землистый и др. Оценка запаха при 60 °С проводится следующим образом: горлышко колбы закрывается стеклом и колба подогревается на водяной бане до нужной температуры, после чего анализируется интенсивность запаха.

3. Для определения привкуса воды 10—15 мл исследуемой воды набирается в рот и задерживается на 3—5 сек (как, например, при дегустации вина), затем воду удаляют из полости рта. Качественно характеризуется вкус воды: соленый, кислый, горький, сладкий, или привкус: щелочной, терпкий, затхлый, металлический и т.д. Интенсивность запаха (или привкуса) оценивается по соответствующей шкале (табл. 4).

Таблица 4.

Шкала интенсивности запаха (привкуса)

Характер проявления	Оценка интенсивности, баллов
Не ощущается	0
Не ощущается населением, но обнаруживается опытным дегустатором	1
Замечается населением, если обратить на это его внимание	2
Легко обнаруживается и вызывает неодобрительный отзыв о воде	3
Обращает на себя внимание и заставляет воздерживаться от питья	4
Настолько сильный, что делает воду непригодной для употребления	5

Результаты обобщаются в виде сводной таблицы (пример – табл. 5). На основании исходных данных рассчитывают среднегеометрические концентрации, соответствующие 1 и 2 баллам. За пороговую концентрацию рекомендуется принимать нижнюю доверительную границу средней величины, которая обеспечивает 95 %-ную достоверность.

Аналогичные расчеты применимы и для оценки влияния веществ на привкус воды. Критерием гигиенического нормирования веществ является порог восприятия запаха (привкуса), соответствующий 1 баллу.

Таблица 5

Пример определения интенсивности запаха воды с различным содержанием в ней полихлорпринена

Концентрация вещества, мг/л	Интенсивность запаха, баллов								M^1
	1	2	3	4	5	6	7	8	
0,25	0	1	1	1	1	1	1	1	0,22
0,5	0	2	2	2	2	2	2	2	0,55
1	1	2—3	2—3	2—3	2—3	2—3	2—3	2—3	1,57
2	2	3	3	3	3	3	3	3	2,55
4	3—4	3—4	3—4	3—4	3—4	3—4	3—4	3—4	3,85
8	5	4	4—5	4—5	4—5	4—5	4—5	4—5	4,94

M^1 - среднеарифметическое значение.

4. Определение пороговых концентраций по влиянию на окраску, мутность воды проводится в столбе раствора высотой 10 и 20 см. Используются 4—5 цилиндров Генера, которые устанавливаются на белой бумаге при равномерном освещении.

5. Пороговая концентрация по пенообразованию определяется с помощью градуированных цилиндров емкостью 1000 мл с притертymi пробками. В них наливается по 500 мл исследуемого раствора и контрольная вода. В течение 15 секунд производится 15 умеренно резких опрокидываний цилиндров - сначала контрольных, а затем опытного - и отмечается интенсивность пенообразования. За пороговую принимается концентрация, при которой отсутствует стабильная крупнопузырчатая пена, а высота мелкопузырчатой у стенок цилиндра не превышает 1 мм.

6. Определение пороговых концентраций по посторонним включениям или плавающим примесям проводится в стакане объемом 500 мл, в который наливается 250 мл раствора, а в 4 других стакана - аналогичные растворы сравнения. Пороговой считается количество вещества, при котором не обнаруживается визуально ни одной видимой частицы в толще, на поверхности или на дне.

Наименьшая из пороговых концентраций по тому или иному органолептическому показателю принимается за пороговую по органолептическому признаку вредности.

РАБОТА № 2. Изучение кумулятивного эффекта вредных веществ по состоянию хвои сосны

Цель работы: изучить кумулятивный эффект вредных веществ, содержащихся в выхлопных газах автотранспорта, по состоянию хвои сосны

Приборы и материалы: лупа, миллиметровая бумага

Теоретическая часть

Кумулятивным эффектом называют эффект воздействия вредных веществ при постепенном накоплении их в живом организме за счет постоянного воздействия. Различают *материальную кумуляцию*, при которой отравления развиваются вследствие *накопления массы вредного вещества* в организме и *функциональную кумуляцию*, при которой развитие отравлений *связано с нарушениями в организме*, вызванными вредными веществами.

Хронические отравления возникают постепенно, при длительном поступлении яда в организм в относительно небольших количествах. Хронические отравления могут быть следствием перенесенной однократной или нескольких повторных острых интоксикаций. К ядам, вызывающим хронические отравления в результате только функциональной кумуляции, относятся хлорированные углеводороды, бензол, бензины и др.

При повторном воздействии одного и того же яда в субтоксической дозе может измениться течение отравления и кроме явления кумуляции развиться сенсибилизация и привыкание.

Кумулятивный эффект ярко проявляется в городах, где человек и все живые организмы постоянно подвергаются воздействию многочисленных вредных веществ, содержащихся в выбросах промышленных предприятий и в особенности автотранспорта.

Визуально легко оценить кумулятивный эффект вредных выбросов автотранспорта, и, соответственно, приближенно оценить степень загрязнения атмосферы, по состоянию хвойных деревьев, произрастающих в придорожной полосе. Хвойные деревья наиболее восприимчивы к воздействию вредных веществ: хвоя меняет цвет и отмирает, частично отмирают и кончики нижних ветвей, обращенных к проезжей части.

Экспериментальная часть

Работа проводится в группах.

1. Выбрать район, в котором будет проводиться обследование хвойных растений.

2. Составить карту района, отметить на ней близлежащие предприятия, дороги с интенсивным транспортным движением, а также точки обследования. При высокой антропогенной нагрузке они должны быть расположены на расстоянии 1, 5–3 км, в малозагрязненных районах — на расстоянии до 10 км.

3. Составить перечень вредных веществ, характерных для данного района (содержащихся в выхлопных газах транспорта или выбросах промышленных предприятий)

4. В районе намеченной точки найти молодые хвойные деревья высотой 1–1,5 м.

5. Оцените степень вытоптанности участка: 1 — вытаптывания нет; 2 — вытоптаны тропы; 3 — ни травы, ни кустарников нет; 4 — осталось немного травы вокруг деревьев. При высокой вытоптанности территории (3–4) экспресс-оценка воздушного загрязнения невозможна.

6. Выберите 5 молодых деревьев, растущих на открытом месте, с 8–15 мутовками боковых побегов на главном стволе, отстоящих друг от друга на расстоянии 10–20 м.

7. У каждого деревца осмотрите хвоинки участка центрального побега предыдущего года (второго сверху). Если деревья очень большие, то обследование проведите на боковом побеге в четвертой сверху мутовке.

8. Определите класс повреждений и усыханий хвои. Иметь в виду, что шипик на конце хвоинки всегда более светлый, поэтому его окраска не включается в оценку. Для осмотра хвои необходимо пользоваться лупой.

Классы повреждения хвои						
Классы усыхания хвои						

Классы повреждения хвои: 1 — хвоинки без пятен; 2 — хвоинки с небольшим числом мелких пятен; 3 — хвоинки с большим числом черных и желтых пятен, некоторые из них крупные, во всю ширину хвоинки.

Классы усыхания хвои: 1 — нет сухих участков; 2 — усох кончик 2–5 мм; 3 —

усохла треть хвоинки; 4 — вся хвоинка жесткая или более половины ее длины сухая.

9. Определите продолжительность жизни хвои. Для этого обследуйте верхушечную часть ствола за последние годы: каждая мутовка, считая сверху — это год жизни. Определите, сколько лет сохраняется хвоя (ее максимальный возраст), причем, если на самом нижнем из освоенных участков часть хвоинок опала, то оценивают примерную долю сохранившихся. Таким образом, полный возраст хвои определяется числом участков ствола с полностью сохраненной хвоей плюс доля сохраненной хвои на следующем за ним участке. Например, если верхушечная часть и два участка между мутовками полностью сохранили хвою, а на следующем участке сохранилась половина хвои, то показатель продолжительности жизни хвои составляет: $3 + 0,5 = 3,5$.

Табл. 6
Экспресс-оценка загрязнения воздуха

Максимальный возраст хвои	Класс повреждения хвои на побегах второго года жизни		
	1	2	3
4	I	I-II	III
3	I	II	III-IV
2	II	III	IV
2	-	IV	IV-V
1	-	IV	IV-VI
1	-	-	VI

Условные обозначения степени загрязнения воздуха:

I — идеально чистый; II — чистый; III — относительно чистый («норма»); IV — загрязненный («тревога»); V — грязный («опасно»); VI — очень грязный («вредно»); прочерком обозначены невозможные сочетания.

Обработка результатов и выводы

Основываясь на данных таблицы 6, сделайте вывод о степени загрязненности воздуха и эффекте кумуляции вредных веществ. По результатам проведенных экспериментов сделайте вывод о состоянии воздушной среды в изученном районе. Обоснуйте возможные причины полученных результатов. Сделайте практические предложения по улучшению экологической ситуации в районе.

РАБОТА 3. Определение основных токсикологических параметров при действии солей тяжелых металлов на прорастание семян

Одной из важнейших задач токсикологии является определение токсикологических параметров вредных веществ, т. е. ПДК и DL_{50} (или CL_{50}). Они необходимы для сопоставления с найденными в результате анализов количества (концентрации) вредного вещества и определения степени возможного ущерба, наносимого здоровью этим токсикантом.

Данная работа позволяет на примере растений получить значение ПДК и CL_{50} для различных токсикантов на примере солей тяжелых металлов.

Оборудование, реактивы, материалы

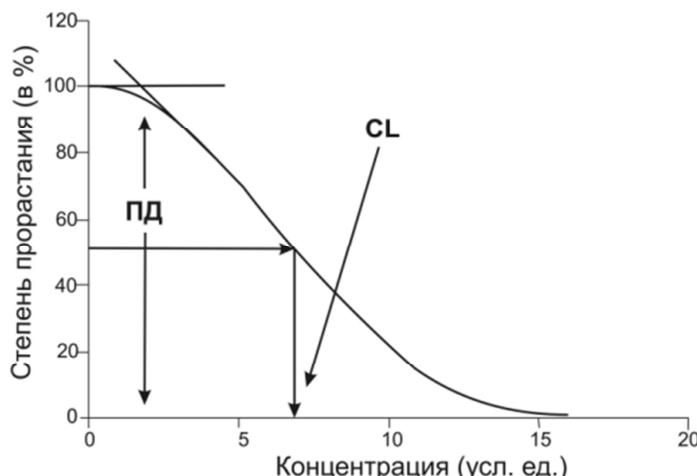
Чашки Петри, цилиндры, пробирки, соли тяжелых металлов, семена растений.

Ход работы

Взвешивается навеска соли для приготовления первоначального раствора (1 М) и растворяется в расчетном количестве дистиллированной воды. Методом последовательных разбавлений дистиллированной водой приготавливают растворы с концентрацией 0,3 М, 0,1 М, 0,03 М, 0,01 М, 0,003 М, 0,001 М, 0,0003 М, 0,0001 М, 0,00003 М, 0,000001 М и т.д., с тем чтобы охватить достаточно большой диапазон концентраций исследуемого вещества.

Приготовленные растворы, а также в качестве контроля дистиллированная вода наливаются в чашки Петри по 5 мл, затем туда же помещаются вырезанные кружки фильтровальной бумаги (в случае последующего анализа состава воды после эксперимента они не вкладываются). Отсчитываются семена редиса или другого растения с коротким временем прорастания и помещаются в количестве 50 или 100 семян в каждую чашку Петри. Каждый вариант готовится в трех повторностях. Чашки Петри закрываются крышками и помещаются в темное место. По мере высыхания в них добавляются порции дистиллированной воды до первоначального объема. Через 7 – 8 дней производят подсчет проросших семян (энергия прорастания), длину корешков, вес растений, предварительно подсушенных фильтровальной бумагой. Полученные результаты записываются в таблицу и на их основании строится график (Рис. 1.).

На рис. 1 изображена кривая влияния фактора на прорастание семян.



Видно, что по мере увеличения концентрации вещества уменьшается величина прорастания семян. На рисунке приведены методы определения ПДК как точки пересечения линии, параллельной оси абсцисс, и продолжения кривой зависимости. CL_{50} определяется как концентрация, при которой наблюдается половинное прорастание семян.

РАБОТА 4. Влияние времени воздействия хлористого натрия на активность движения одноклеточных

Данная работа демонстрирует развитие токсического действия хлористого натрия на подвижность простейшего одноклеточного инфузории туфельки.

Оборудование, реактивы, материалы

Микроскоп, секундомер, раствор $NaCl$ - 1 М, 0,1 М, 0,01 М, предметное стекло, стеклянная палочка, популяция инфузорий.

Ход работы

Из стакана с водой, содержащего популяцию инфузорий, забирается пипеткой капелька и помещается на предметное стекло. Предметное стекло помещается на столик микроскопа и устанавливается общее увеличение $\times 50$.

В поле микроскопа видна только часть капли, и инфузории пересекают это поле. Скорость движения инфузорий подсчитывается как число появившихся в поле зрения окуляра микроскопа простейших в минуту. Затем рядом с этой каплей наносится капля раствора хлористого натрия в указанных концентрациях, стеклянной палочкой или иголкой соединяются обе капли в одну и начинается определение изменения скорости движения клеток во времени с учетом увеличения общего объема, в течение 30 минут. Величина капель с инфузориями и капель с $NaCl$ может быть легко подсчитана. Скорость движения инфузорий пропорциональна градиенту концентрации ионов Na^+ в растворе и в организме инфузорий. Полученные данные заносятся в таблицу, и затем на основании этих данных строится график зависимости изменения скорости движения инфузорий от градиента концентрации $NaCl$. Чем больше градиент концентрации хлористого натрия, тем быстрее ионы натрия попадают в клетки инфузорий и вызывают прекращение движения.

РАБОТА 5. Определение устойчивости клеток различных растений к обезвоживанию серной кислотой

В условиях городских экосистем явление обезвоживания органов (и, соответственно клеток) у древесных растений встречается очень часто. Особенно это выражено на освещенных сторонах улиц, когда водообмен затруднен из-за малого проникновения в почву осадков, а полив не производится. Это явление выражается в потере тurgора, колоколообразности листьев, пожелтении, в появлении некрозов.

Предлагаемая работа основана на свойствах серной кислоты обезвоживать клетки листа, что часто встречается в условиях антропогенного загрязнения, когда попавший через устьица в растение сернистый газ превращается в протоплазме клетки в серную кислоту (весьма гигроскопичное вещество), вызывая потерю листом тurgора, повреждение и гибель клеток.

В другом варианте серная кислота, содержащаяся в воздухе больших городов, образует туман из мельчайших капелек. Попадая на растение в больших концентрациях, она вызывает ожоги, в малых очень быстро проникает через устьица внутрь межклетников, энергично отнимает воду от углеводов, образующихся в процессе фотосинтеза, вызывая гибель клеток и обугливание тканей листа.



Живая клетка отличается от мертвой хорошо выраженным плазмолизом.

Оборудование, реактивы, материалы

1) микроскоп; 2) предметные и покровные стекла; 3) эксикатор; 4) бритва; 5) концентрированная серная кислота, разведенная дистиллированной водой (1:1); 6) 1 М раствор сахарозы; 7) листья разных древесных растений.

Ход работы

Берут листья разных древесных растений, растущих в относительно чистой зоне, но встречающихся в уличных посадках города. Из листа растения вырезают пластинки размером 2 – 4 см² и кладут в эксикатор над серной кислотой, разбавленной водой в соотношении 1:1. Пластинки выдерживают в течение 2 – 3 часов, затем делают срезы, окрашивают «нейтральным красным» и плазмолизируют молярным раствором сахарозы, просасывая его между предметными и покровными стеклами. Просматривают под микроскопом в разных полях зрения и посчитывают оставшиеся живыми клетки по возникшему плазмолизу. Чем больше осталось живых клеток, тем лучше растение выносит обезвоживание.

Строят ряд устойчивости клеток разных растений к обезвоживанию (устойчивости к сернистому газу).

Можно одновременно определить и содержание воды в вырезанных пластинках листа. В том случае можно узнать не только число оставшихся живых клеток, но и при каком содержании воды устойчивость выше.

В случае отсутствия древесных растений можно использовать комнатные.

РАБОТА 6. Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков

Работа наглядно показывает действие солей биогенных и небиогенных тяжелых металлов на животные и растительные белки, выявляет разницу в реакции тех и других. Белки с тяжелыми металлами образуют комплексы, нерастворимые в воде.

Оборудование, реактивы, материалы

1) пробирки – 16 шт.; 2) пузырьки из под пенициллина – 8 шт.; 3) стаканчик – 1 шт.; 4) пипетка на 1 мл – 1 шт.; 5) пипетки аптечная – 2 шт.; 6) стеклограф; 7) фильтровальная бумага; 8) 5%-ный раствор сульфата меди; 9) 5%-ный раствор Pb(NO₃)₂; 10) дистиллированная вода; 11) животный белок (куриного яйца); 12) растительный белок (зернового гороха); 13) этиловый или пропиловый спирт

Ход работы

Приготавливают серию растворов сульфата меди, нитрата свинца, (хлорида кадмия, сульфата цинка) из исходного из исходного 0,5 М методом последовательных разбавлений: 0,1 М, 0,03 М, 0,01 М, 0,003 М, 0,001 М, 0,0003 М, 0,0001 М, 0,00003 М. Каждый студент вносит в 8 пробирок пипеткой по 1 мл животного белка, а в другие 8 – по 1 мл растительного белка. В каждую пробирку добавляют по 1 мл одного из указанных растворов испытуемой соли. Все пробирки помечают стеклографом. Затем по наклонной стенке осторожно вливают в пробирки по 1 мл этилового или пропилового спирта, осторожно покачивают пробирки, чтобы верхняя часть растворов перемешалась. На границе слоев растворов белка и спирта в некоторых пробирках образуется муть или осадок. Характер коагуляции рассматривают на темном фоне (кусочек черной бумаги, доска и др.).

Результаты оформляют в виде таблицы. Определяют концентрацию раствора соли, при которой происходит коагуляция белка (при разном виде солей и при разном типе белков).

Ответить на следующие вопросы.

1. На какой из вида белков (животный или растительный) сильнее всего действуют выбранные соли?

2. Какова предельно действующая концентрация выбранных солей?

Приготовление растворов белков

А. У куриного яйца отделить белок в мерный стаканчик, размешать его стеклянной палочкой в дистиллированной воде в соотношении 1:10. Затем профильтровать.

Б. Зерновой вызревший горох перемолоть в муку в кофемолке, развести в соотношении: 10 г гороховой муки на 50 мл 10%-ного раствора хлорида натрия или KCl. Профильтровать.

РАБОТА 7. Нейтрализация токсического действия фенола янтарной кислотой

Одним из методов преодоления токсического действия вредного вещества является мобилизация внутренних резервов организма с тем, чтобы компенсировать отрицательное действие токсиканта. Прорастание семян – весьма ответственный этап в развитии растений. В этот момент начинается рост побега из весьма немногочисленных клеток зародыша, при этом первоначальные возможности растения невелики. Поэтому любое неблагоприятное воздействие может оказаться летальным из-за нехватки, например, энергетических ресурсов у растения, так как еще не развиты пути подачи питательных веществ из эндосперма. Добавление янтарной кислоты, одного из основных субстратов дыхания, позволяет быстро получить энергию клетками в результате активации митохондриального дыхания. Поэтому проростки в большей степени способны противостоять токсическому действию фенола.

Оборудование, реактивы, материалы

Чашки Петри, цилиндры, пробирки, раствор фенола с концентрацией 5%, раствор янтарной кислоты с концентрацией 0,5 %, семена растений.

Ход работы

Из первоначального раствора фенола методом последовательных разбавлений в пять раз готовят растворы с концентрацией 0,1 %, 0,02 %, 0,004 %, 0,0008 %, 0,00016 %, 0,000032 % и воды в качестве контроля. 8 мл этих растворов добавляют в Чашки Петри, содержащие по 100 семян выбранного растения. Одновременно в эти же чашки Петри добавляется раствор янтарной кислоты до концентрации 0,005 мг/мл. Чашки Петри устанавливаются в темное место, и через 7 дней производится подсчет проросших семян.

На основании полученных результатов составляется график зависимости прорастания семян от концентрации фенола, и действие на него янтарной кислоты.

РАБОТА 8. Нейтрализация действия тяжелых металлов на прорастание семян с помощью комплексона Трилон Б

Одним из методов преодоления токсического действия вредного вещества является связывание токсиканта антидотом, так что его отрицательное действие ослабевает. У растений ионы тяжелых металлов связываются с поверхностью клеток корня и проникают внутрь клеток, так как последние могут поглощать положительно заряженные ионы. Такие комплексоны, как динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА, Трилон Б) способны образовывать прочные комплексы с катионами, и тем самым понижать их концентрацию в свободном состоянии. Так как эти комплексоны имеют значительно большие размеры, нежели сами катионы, они не способны проникнуть внутрь клеток, и, следовательно, отрицательное действие ионов тяжелых металлов сильно уменьшается.

Оборудование, реактивы, материалы

Чашки Петри, цилиндры, пробирки, раствор соли тяжелого металла с концентрацией 0,5 М, раствор Трилона Б с концентрацией 0,1 М, семена растений.

Ход работы

Из первоначального раствора соли тяжелого металла методом последовательных разбавлений в пять раз готовят растворы с концентрацией 0,1 М, 0,002 М, 0,004 М, 0,0008 М, 0,00016 М, 0,000032 М и воды в качестве контроля. 8 мл этих растворов добавляются в чашки Петри, содержащие по 100 семян выбранного растения. Одновременно в эти же чашки Петри добавляется раствор Трилона Б до концентрации 10 мМ. Чашки Петри устанавливаются в темное место, и через 7 дней производится подсчет проросших семян.

На основании полученных результатов составляется график зависимости прорастания семян от концентрации фенола, и действие на него янтарной кислоты. Произвести сопоставление нейтрализующего действия Трилона Б с концентрацией соли тяжелого металла.

Работа 9. Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы

Одно из самых важных мест в экосистемах занимают микроорганизмы.

Они являются последней степенью в большинстве пищевых цепей, т. е. редуцентами

Такие организмы, как плесневые грибки, используют в качестве пищи органические вещества остатков от растений и животных, минерализуя их, делая доступным для растений различные элементы. Тяжелые металлы могут сильно ингибировать их активность.

Оборудование, реактивы, материалы

Чашки Петри, цилиндры, пробирки, раствор соли тяжелого металла с концентрацией 0,5 М, фильтровальная бумага, образец почвы.

Ход работы

Из первоначального раствора соли тяжелого металла методом последовательных разбавлений в пять раз готовят растворы с концентрацией 0,1 М, 0,02 М, 0,004 М, 0,0008 М, 0,00016 М, 0,000032 М и воды в качестве контроля. 8 мл этих растворов добавляются в чашки Петри, содержащие слой почвы 0,5 см. Поверх почвы накладывают кружок из фильтровальной бумаги. Чашки Петри устанавливаются в темное место, и регулярно поверхность бумаги смачивается, чтобы избежать высыхания. Эксперимент продолжается до тех пор, пока в контрольном варианте желтая плесень грибков *Aspergillus* или темно-зеленая *Trichoderma* не займут большую часть бумажного кружка. Тогда кружки бумаги вынимают, осторожно освобождая от комочеков почвы. Плесневые грибки в ходе своей жизнедеятельности выделяют различные окрашенные вещества, поглощаемые бумагой, и по размеру окрашивания можно судить об активности плесневых грибков. Изображение пятен переносится на кальку, и определяется площадь окрашивания.

На основании полученных результатов составляется график зависимости активности микроорганизмов от концентрации тяжелых металлов в почве.

РАБОТА 10. Влияние солей тяжелых металлов на гликолитическую активность дрожжей

Дрожжи являются одним из наиболее изученных биологических объектов. Поэтому их удобно использовать и как объекты для токсикологии. Они быстро размножаются. Их активность достаточно просто определить.

Оборудование, реактивы, материалы

Стаканчики, цилиндры, пробирки, парафин, раствор соли тяжелого металла с концентрацией 0,5 М, препарат дрожжей.

Ход работы

Предварительно калибруются и выбираются пробирки с одинаковым диаметром. Из первоначального раствора соли тяжелого металла методом последовательных разбавлений в пять раз готовятся растворы с концентрацией 0,1 М, 0,002 М, 0,004 М, 0,0008 М, 0,00016 М, 0,000032 М и воды в качестве контроля. Эти растворы в количестве 3 мл наливаются в пробирки, стаканчики. Сухие дрожжи распускают в воде, добавляют сахар из расчета 5 г/100 мл и добавляют в пробирки с солями. Парафин расплавляют и осторожно наливают в пробирки с дрожжами и солями. Когда парафин застывает, он образует плотную пробку. Под пробкой образуется анаэробная среда. В этих условиях дрожжи сбраживают сахар, образуя этанол и углекислый газ. Объем выделившегося углекислого газа пропорционален активности гликолиза. Через заранее

определенное по контролю время измеряется величина подъема пробки, которая пропорциональна объему выделившегося углекислого газа.

Результаты оформляются в виде графика зависимости подъема парафиновой пробки от концентрации соли тяжелого металла.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ЗАЧЕТА

1. Токсичность и токсический процесс как основные понятия токсикологии. Формы проявления токсического процесса у человека.
2. Основные типы преимущественного действия токсичных веществ (местное, рефлекторное, резорбтивное действие) на организм. Острые, подострые и хронические формы интоксикации.
3. Определения токсичности. Количественная оценка токсичности. Основные категории токсических доз (концентраций), используемых в токсикологии
4. Токсические свойства, механизм действия, патогенез и клинические проявления поражений токсическими химическими веществами раздражающего действия (хлорацетофеноном, адамситом, веществами «Си-Эс», «Си-Ар» и др.). Профилактика поражений, оказание медицинской помощи.
5. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса при острых ингаляционных поражениях токсическими химическими веществами пульмонотоксического действия. Профилактика поражений. Оказание первой помощи.
6. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса при поражении химическими веществами, вызывающими гемолиз (мышьяковистый водород, и др.). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.
7. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса при поражении химическими веществами, нарушающими кислородно-транспортную функцию крови (оксид углерода, карбонилы металлов, нитро- и аминосоединения ароматического ряда, и др.). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.
8. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса при поражении химическими веществами, подавляющими активность энзимов цикла трикарбоновых кислот (фторацетат и другие производные фторкарбоновых кислот). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.
9. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса при поражении химическими веществами, ингибирующими цепь дыхательных ферментов в митохондриях (цианиды, азиды, нитрил акриловой кислоты, и др.). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.
10. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса при поражении химическими веществами, разобщающими процессы биологического окисления и фосфорилирования (динитроортокрезол, и др.). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.
11. Механизм действия, патогенез и проявления токсического процесса при поражении токсичными модификаторами пластического обмена (диоксины,

полихлорированные бифенилы). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.

12. Механизм действия, патогенез и проявления токсического процесса при поражении ингибиторами синтеза белка и клеточного деления (иприты, соединения мышьяка и тяжёлых металлов, взрывчатые вещества из группы эпоксидов, метилбромид, метилхлорид, диметилсульфат, рицин и др.). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.

13. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса при поражении веществами паралитического (ботулотоксин, тетродотоксин, сакситоксин) и седативно-гипнотического (барбитураты, бензодиазепины, оксид азота, эфиры, спирты, алифатические и циклические углеводороды, галогенированные углеводороды и эфиры, опиаты) действия. Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.

14. Особенности механизма действия, патогенеза и проявлений токсического процесса

при поражении психоактивными веществами (производными лизергиновой кислоты, амфетамина, псилоцибина, гликолатов, галлюциногенных каннабинолов). Профилактика поражений, оказание первой медицинской помощи.

15. Механизмы токсического действия и патогенез интоксикации при поражении метиловым спиртом, этиленгликолем, дихлорэтаном, трихлорэтиленом, тетраэтилсвинцом. Основные проявления токсического процесса. Первая помощь.

16. Виды ионизирующих излучений и их свойства. Количественная оценка ионизирующих излучений. Основы дозиметрии. Источники радионуклидов в природе и народном хозяйстве.

17. Физическая, физико-химическая, химическая и биологическая стадии в действии ионизирующих излучений. Молекулярные механизмы лучевого повреждения биосистем. Биологическое усиление радиационного поражения.

18. Поражения радиоактивными веществами при их попадании внутрь организма. Местные лучевые поражения кожи и слизистых оболочек. Средства и методы профилактики острых лучевых поражений. Радиопротекторы. Краткая характеристика и порядок применения радиопротекторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поспелов, Н.В. Основы общей токсикологии: учебное пособие / Н.В. Поспелов; Министерство транспорта Российской Федерации, Московская государственная академия водного транспорта. – Москва: Альтаир: МГАВТ, 2012. – 88 с.: табл. – Режим доступа: по подписке. –

URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=430046> – Библиогр. в кн. – Текст: электронный.

2. Марченко, Б.И. Экологическая токсикология: учебное пособие / Б.И. Марченко; Южный федеральный университет, Инженерно-технологическая академия. – Ростов-на-Дону; Таганрог: Южный федеральный университет, 2017. – 104 с.: ил. – Режим доступа: по подписке. –

- URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=499758> – Библиогр. в кн. – ISBN 978-5-9275-2585-0. – Текст: электронный.
3. Воробьева, В.В. Введение в радиоэкологию: учебное пособие / В.В. Воробьева. – Москва: Логос, 2009. – 358 с. – (Новая университетская библиотека). – Режим доступа: по подписке. – URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=234009> – ISBN 978-5-98704-084-1. – Текст: электронный.
4. Баширов, В. Промышленная токсикология: курс лекций / В. Баширов; Оренбургский государственный университет. – Оренбург: Оренбургский государственный университет, 2012. – 84 с. – Режим доступа: по подписке. – URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=259200> – Текст: электронный.
5. Современная химия и химическая безопасность: учебное пособие: [16+] / сост. Л.В. Кузьмина, Е.Г. Газенаур, В.И. Крашенинин; Кемеровский государственный университет и др. – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2016. – 78 с.: ил., табл. – Режим доступа: по подписке. – URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=574225> – Библиогр. в кн. – ISBN 978-5-8353-2104-9. – Текст: электронный.
6. Ковалев, С.А. Антология безопасности: химическая безопасность: [16+] / С.А. Ковалев, В.С. Кузеванов; Омский государственный университет им. Ф. М. Достоевского. – Омск: Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, 2019. – 60 с.: ил. – Режим доступа: по подписке. – URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=575826> – Библиогр.: с. 48 - 49. – ISBN 978-5-7779-2376-9. – Текст: электронный.
7. Идентификация и воздействие на человека и среду обитания негативных факторов: курс лекций / авт.-сост. Д.А. Ефимов; Кемеровский государственный университет. – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2015. – 95 с. – Режим доступа: по подписке. – URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=481539> – Библиогр. в кн. – ISBN 978-5-8353-1862-9. – Текст: электронный.