

Бузылёв А.В., Илюшкова Е.М.,
Леонова Ю.В., Жигалева Я.С.



**РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ
ПРАКТИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ
РАБОТ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
«ОСНОВЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ»**

Учебно-методическое пособие

**Бузылёв А.В., Илюшкова Е.М., Леонова Ю.В.,
Жигалева Я.С.**

**РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ
ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ
ПРАКТИЧЕСКИХ
И ЛАБОРАТОРНЫХ
РАБОТ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
«ОСНОВЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ»**

Учебно-методическое пособие

**Москва
2024**

УДК 504.5 (075.8)

ББК 20.18я73

Рабочая тетрадь **Основы экотоксикологии**/ Бузылёв А.В., Илюшкова Е.М.,
Леонова Ю.В., Жигалева Я.С. М.: Изд-во ИП Якунина В.А., 2024. 60 с.

В учебно-методическом пособии (рабочая тетрадь) приведены тематические задания и основы теоретического курса по программе учебной дисциплины «Основы экотоксикологии». Предназначено для проведения лабораторных и практических занятий при подготовке бакалавров по направлению (специальности) 05.03.06 «Экология и природопользование».

В пособии представлен алгоритм выполнения занятий по дисциплине «Основы экотоксикологии» для овладения студентами практическими навыками по проведению расчетов и определения токсичности химических веществ. В учебном пособии содержатся планы лабораторных работ, тематические вопросы по подготовке практических заданий и самопроверки для усвоения учебного материала.

*Рекомендовано к изданию учебно-методической комиссией Института
мелиорации, водного хозяйства и строительства имени А.Н. Костякова*

.....

Рецензент

*Кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии РГАУ-МСХА имени
К.А. Тимирязева **М.В. Тихонова***

ISBN 978-5-6053077-0-9

© Бузылёв А.В.
© Илюшкова Е.М.
© Леонова Ю.В.
© Жигалева Я.С.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Тема 1. Основные понятия, история изучения, цели и задачи токсикологии и экотоксикологии	5
Лабораторная работа 1.	11
Определение основных токсикологических параметров при действии солей тяжелых металлов на прорастание семян	11
Тема 2. Приоритетные загрязняющие вещества окружающей среды	17
Тема 3. Диоксины. Полициклические ароматические углеводороды	20
Лабораторная работа 2.	25
Определение содержание нитратов в различных овощах и фруктах.....	25
Тема 4. Механизмы действия токсикантов и их поведение в окружающей среде	31
Тема 5. Промышленные токсиканты	36
Тема 6. Экотоксикокинетика	39
Лабораторная работа 3.	43
Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы....	43
Тема 7. Пищевые добавки.....	47
Тема 8. Микотоксины.....	53
Библиографический список.....	57

Введение

Цель изучения курса «Основы экотоксикологии» заключается в приобретении знаний и практических навыков в области экологии токсичных веществ и осмысление экотоксикологических проблем современности с точки зрения обеспечения экологической безопасности и ответственности при выборе и принятии оптимальных решений в своей будущей профессиональной деятельности, направленных на экологизацию природопользования, природосообразное его использование, обеспечивающих высокое качество получаемой продукции, а так же жизни и здоровья населения.

Неблагоприятное воздействие химических веществ на здоровье человека и окружающую его среду путем поступления чрез продукты питания представляет проблему глобального масштаба. Для решения проблем с путями поступления химических веществ в продукты питания, организм человека и ее необходимо использовать токсикологию – науку, изучающую действие ядовитых веществ на организм. В связи с разработкой новых химических веществ, воздействующих на организм человека, необходимо знать основы их токсикологического действия, распознавать и предотвращать эти проявления, а также уметь оказывать помощь при возникновении интоксикаций химическими веществами в результате производственной деятельности.

Серьезную опасность для здоровья человека представляет загрязнение атмосферного воздуха аммиаком, бенз(а)пиреном, стиролом, фенолом, диоксидом серы и азота. Источники питьевого водоснабжения, продукты питания и почва загрязняются солями металлов (железо, медь, цинк, марганец, свинец, стронций, ртуть). При длительном воздействии в небольших количествах химических веществ отмечаются напряжение неспецифического иммунитета и увеличение риска возникновения заболеваний, в группе которых превалируют заболевания от воздействия химических факторов.

Тема 1. Основные понятия, история изучения, цели и задачи токсикологии и экотоксикологии

В XX в. в связи с широким применением химических веществ практически во всех сферах человеческой деятельности, включая сельское хозяйство, возникла необходимость решения сложных проблем влияния токсических веществ на человека, другие живые организмы и экосистемы в целом. Согласно Программе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) к основным задачам развития в XXI в. относятся обеспечение химической безопасности, предотвращение вредного влияния потенциально опасных химических веществ на здоровье людей.

Токсикология (от греч. *toxikon* -яд, *logos*- понятие)- наука о заболеваниях организма, вызванных воздействием вредных веществ (ядов), изучающая взаимодействие организма и яда.

Яд - вещество, оказывающее на организм химическое воздействие и вызывающее в нем патологические изменения; химический компонент среды обитания, поступающий в количестве (реже качестве), не соответствующем врожденным или приобретенным свойствам организма, и поэтому оказывающий на него вредное действие или несовместимый с его жизнью. Под **опасностью яда** понимают возможность возникновения интоксикации при действии яда в естественных условиях.

Раздел токсикологии, оперирующий понятиями токсичности и опасности веществ, называется **токсикометрией**. Важнейшим параметром токсикометрии является **токсичность** (ядовитость) химического соединения. Опасные для человека и других живых организмов токсические химические вещества получили название *токсикантов, экотоксикантов, ксенобиотиков* (чужеродные для организмов, не встречавшиеся ранее в биосфере химические соединения; попадая в окружающую среду в значительных количествах, они могут вызвать гибель организмов, нарушать нормальное течение природных процессов), загрязнителей, контаминантов (экологически вредные вещества, аккумулируемые в пищевых продуктах из окружающей среды в опасных количествах).

Основной целью токсикологии является исследование факторов химической токсичности, форм и проявлений токсического процесса. К ее задачам относятся:

- изучение основных характеристик и свойств химических веществ, определяющих их токсичность и опасность; факторов, влияющих на токсичность; путей проникновения токсикантов в организм, закономерностей их распределения, метаболизма и выведения; различных форм токсического процесса, механизмов и закономерностей формирования патологических состояний, вызываемых химическими веществами при остром, подостром и хроническом воздействии;
- классификация токсикантов, представляющих угрозу жизни, здоровью, профессиональной работоспособности человека;

- оценка токсичности, установление количественных характеристик связей между действием веществ и развитием различных форм проявлений токсического процесса; нормативов, определяющих условия безопасного взаимодействия человека с вредными веществами;

- разработка методов профилактики токсического действия химических веществ, принципов выявления высокотоксических веществ в различных средах.

Экологическая токсикология, или **экотоксикология**, представляет собой междисциплинарное научное направление, изучающее действие вредных химических веществ, находящихся в окружающей среде, на живые организмы и их популяции, входящие в состав экосистем, - от микроорганизмов до человека.

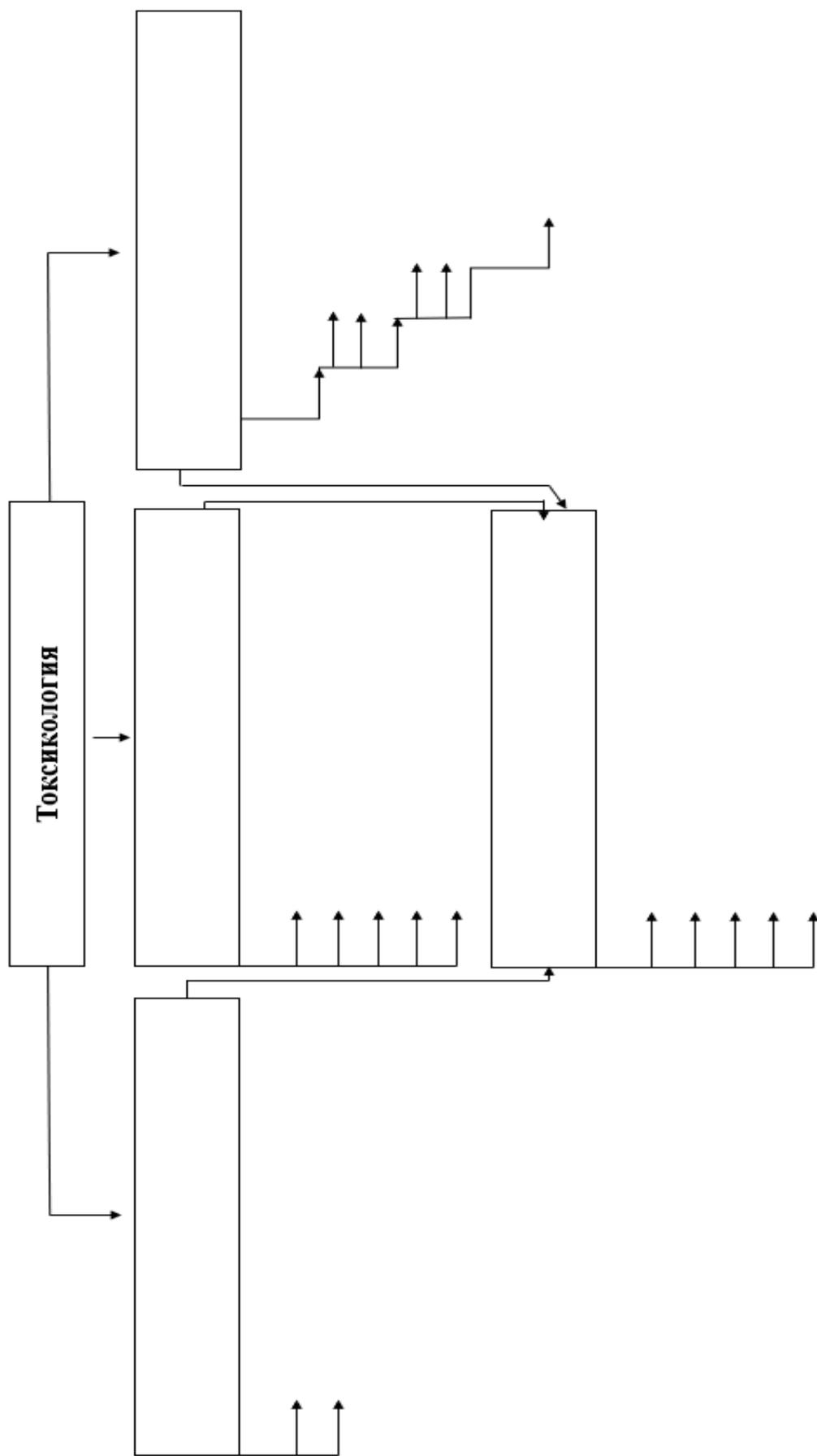
Определение экотоксикологии как самостоятельного научного направления было введено в 1969 г., когда при Международном научном комитете по проблемам окружающей среды была организована специальная Рабочая комиссия по экологической токсикологии. В 1978 г. на конференции Международного научного комитета по проблемам окружающей среды было принято уточненное определение экотоксикологии как Междисциплинарного научного направления, связанного с изучением токсических эффектов действия химических веществ на живые организмы, преимущественно на популяции организмов и биоценозы, входящие в состав экосистем. Она изучает источники поступления вредных веществ в окружающую среду, их распределение и превращение в окружающей среде, действие на живые организмы. Человек, несомненно, является наивысшей ступенью в ряду биологических мишеней.

Экотоксикология пользуется классическими приемами токсикологии, имея при этом и свои собственные методы и объекты исследований.

Практическими результатами исследований являются разработка рекомендаций и проведение правовых, технологических, медицинских и санитарно-гигиенических мероприятий по контролю и снижению уровня загрязнений. В их основу положена концепция гигиенического регламентирования вредных факторов окружающей среды, включающая установление количественных значений **предельно допустимых концентраций (ПДК), ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) экотоксикантов в воздухе, воде, почве, максимально допустимых уровней (МДУ) остаточных количеств химических средств защиты растений и допустимых остаточных количеств (ДОК) химических веществ в продуктах питания.**

Важное значение в экотоксикологии имеет изучение токсичности не только самого вещества, попадающего в окружающую среду, но и продуктов его превращения. При загрязнении отходами производств, продуктами сжигания топлива, мусора образуется смесь продуктов сложного состава. При этом общий токсический эффект смеси может отличаться от суммарной токсичности ее отдельных компонентов.

8. Заполните схему «Виды токсикологий»:



Лабораторная работа 1.

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

Различные тяжелые металлы способны оказывать разностороннее влияние на семена растений и их прорастание. В зависимости от химических свойств солей тяжелых металлов и их концентрации степень воздействия может варьировать от стимулирования роста до полной гибели. Воздействие может происходить на разных стадиях развития. Если соль остро токсична для данного вида, то может произойти гибель зародыша семени и прорастания не произойдет. Для оценки этого явления сравнивают число проросших семян в опыте и контроле. Если данная концентрация соли не вызывает гибель зародыша, и прорастание происходит, то скорость деления клеток в проростке может значительно изменяться. Поэтому проводят сравнение длины корня и стебля проростка в исследуемой концентрации и контроле.

Одной из важнейших задач токсикологии является определение токсикологических параметров вредных веществ, т.е. ПДК и DL50 (или CL50). Они необходимы для сопоставления с найденным в результате анализов количестве (концентрации) вредного вещества и определении степени возможного ущерба, наносимого здоровью этим токсикантом.

Химические вещества могут оказывать широкий спектр воздействия на наше здоровье. В зависимости от того, как будет использоваться химическое вещество, могут потребоваться различные виды испытаний на токсичность.

Поскольку разные химические вещества вызывают разные токсические эффекты, сравнивать токсичность одного с другим сложно. Например, мы можем измерить количество химического вещества, которое вызывает повреждение почек, но не все химические вещества повредят почку. Можно сказать, что повреждение нерва наблюдается при введении 10 г. химического вещества А, а при поражении 10 г. химического вещества — повреждение почек. Однако эта информация не говорит нам, является ли А или В более токсичными, потому что мы не знаем, какое повреждение является более критическим или вредным.

Поэтому, чтобы сравнить токсическую активность или интенсивность различных химических веществ, исследователи должны измерить один и тот же эффект. Одним из способов является проведение тестирования на летальность (тесты LD50) путем измерения количества химического вещества, необходимого для смерти. Этот тип теста также называют «количественным» тестом, потому что он измеряет эффект, который «возникает» или «не возникает».

Основное различие между LD50 и LC50 является то, что LD50 означает смертельную дозу, тогда как LC50 обозначает летальную концентрацию.

Термины LD50 и LC50 встречаются в основном в токсикологии. Это *параметры для различных химических соединений, которые описывают количество вещества, которое может вызвать смерть*. Оба эти параметра измеряют смертельный характер вещества, когда им подвергается воздействию живые существа и вызывает их 50% гибель. Например, LD50 означает дозу вещества, которое может вызвать 50% смертей при воздействии на определенную группу живых существ.

LD означает «**Смертельная доза**». LD50 (ЛД50) — это количество материала, которое выдается сразу, что приводит к гибели 50% (одной половины) группы подопытных животных. LD50 является одним из способов измерения кратковременного отравления (острая токсичность) материала. Здесь вещество, которое мы рассматриваем в отношении токсичности, обычно представляет собой токсин, радиацию или патоген.

LC50 (ЛК50) означает «**Смертельная концентрация**», которая может вызвать 50% смертей при воздействии на живых существ. Значения LC обычно относятся к концентрации химического вещества в воздухе, но в экологических исследованиях это также может означать концентрацию химического вещества в воде.

Данная работа позволяет на примере растений получить значение ПДК и CL50 для различных токсикантов на примере солей тяжелых металлов.

Опыт может проводиться в двух вариантах:

1) Когда семена тест-растений помещают в чашку Петри с фильтровальной бумагой, в которую вносят растворы солей тяжелых металлов. Результаты получают через 7–10 дней.

2) Семена тест-растений высаживают в стаканчики с прокаленным песком, который увлажняется растворами исследуемых солей тяжелых металлов. Результаты получают через 14 дней.

Достоверность результатов наблюдений достигается использованием большого числа повторений (не менее 3) в каждом варианте, а также при статистической обработке полученных данных.

Цель работы: определить основные токсикологические параметры при действии солей тяжелых металлов на прорастание семян

Материалы и оборудование: чашки Петри; фильтровальная бумага; пипетки мерные на 10 мл; карандаши по стеклу; небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения солей; пластиковые стаканчики; прокаленный песок; растворы солей тяжелых металлов: CuSO_4 (ПДК 0,004 мг/л) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,03 мг/л), $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,0005 мг/л), KMgO_4 (ПДК 0,01 мг/л).

Семена тест-культур должны принадлежать к одному виду и сорту, соответствовать 1-му классу, быть одного года урожая (предыдущего или непосредственно года проведения исследования), не обработанными

протравителями. Предназначенные для проращивания семена предварительно прогревают при температуре 30–40° С в течение 5–7 суток.

Ход работы

Из исходных растворов солей приготавливают рабочие растворы путем последовательного разведения (рис.1) 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. Для работы необходимо приготовить растворы, соответствующие 1 ПДК, 10 ПДК и 0,1 ПДК. Для тестирования каждой концентрации готовят не менее 5 чашек Петри.

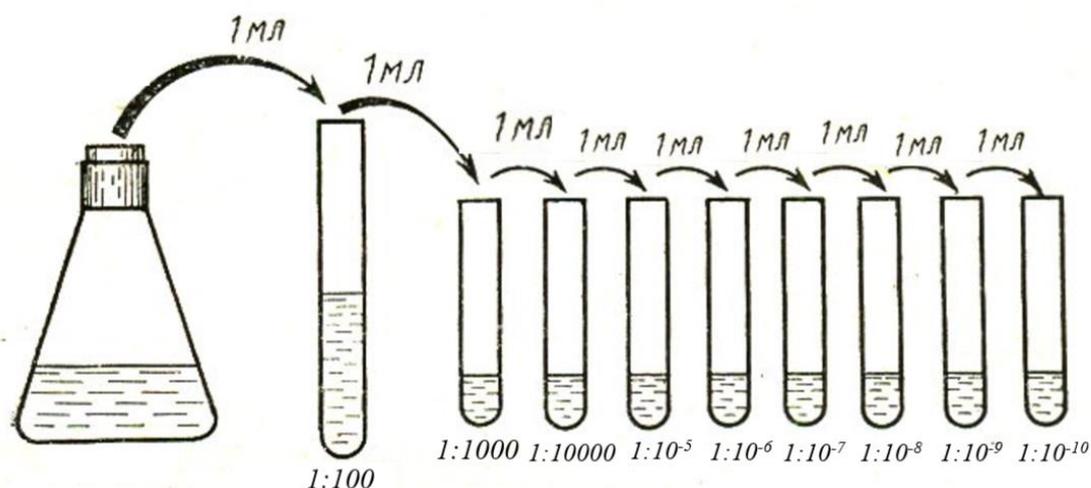


Рисунок 1. Приготовление рабочего раствора методом разведения

В чашки Петри выкладывают по 2 кружка фильтровальной бумаги. На подготовленную чашку аккуратно с равными промежутками выкладывают семена. На чашке подписывают номер группы, исследуемое вещество, концентрацию. Затем в каждую чашку аккуратно вносят по **20 мл** исследуемого раствора. Накрывают крышкой и помещают в термостат на проращивание при температуре 20 °С. Помимо опытных чашек закладывается контрольный образец, в который вместо раствора солей вносят по **20 мл** дистиллированной воды.

Через 7–10 дней чашки Петри достают из термостата, проводят необходимые наблюдения и исследования. Далее проводятся следующие наблюдения и замеры, а данные записывают в таблицу.

1. Количество взошедших, нормально развитых побегов. Взошедшим считается побег длиной 5 и более мм. Нормальные побеги не должны иметь видимых морфологических изменений.

2. Измеряют длину образовавшихся проростков, отмечают имеющиеся морфологические изменения (увядание, почернение и т.п.).

3. Результаты наблюдений записывают в таблицу 1.

Таблица 1

Результаты влияния солей тяжелых металлов на прорастание семян

Испытуемое вещество, концентрация (мг/л)	Номера чашек	Количество проростков	Удельная токсичность (кол-во проростков) $\frac{K - O}{K} * 100\%$	Длина проростка, см	Удельная токсичность (длина проростков) $\frac{K - O}{K} * 100\%$
CuSO ₄ 0,1M	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
Pb(NO ₃) ₂ 0,1M	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
Hg(NO ₃) ₂ 0,1M	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
KMgO ₄ 0,1M	1				
	2				
	3				
	4				
	5				

Определяют удельную токсичность в отношении прорастания семян и в отношении нарушения роста проростков. Анализируют наличие морфологических отклонений у проростков.

Делают выводы о степени токсичности различных концентраций солей тяжелых металлов на отдельные стороны жизнедеятельности проростков зерновых культур, *отвечая на следующие вопросы:*

1. Сформулируйте понятия: «ксенобиотики», «экополлютант», «экотоксикант», «экотоксичность».

5. Какой метод широко используется для оценки токсичности химикатов? В чем заключается его суть?

Тема 2. Приоритетные загрязняющие вещества окружающей среды

В настоящее время общее количество загрязняющих окружающую среду веществ превышает 20 тыс. Разнообразие загрязняющих веществ делает практически невозможным контроль над содержанием каждого из них в объектах окружающей среды, поэтому выделяют группу так называемых **приоритетных загрязняющих компонентов**.

Приоритетные загрязняющие вещества:

- диоксид серы (с учетом эффектов вымывания диоксида серы из атмосферы и попадания образующихся серной кислоты и сульфатов на растительность, почву и в водоемы);

- тяжелые металлы – свинец, кадмий и особенно ртуть;

- канцерогенные вещества, в частности бенз(а)пирен;

- нефть и нефтепродукты в морях и океанах;

- хлорорганические пестициды (в сельских районах);

- оксид углерода и оксиды азота (в городах);

- радиоактивные вещества;

- диоксины (хлоруглеводороды)

Для обоснованного выбора приоритетных химических веществ обычно придерживаются определенных требований, изложенных в Международной программе по химической безопасности. Приоритетными считают вещества, имеющие следующие характеристики:

— широкое распространение вещества в окружающих человека микросредах и уровни его воздействия, способные вызвать неблагоприятные изменения в состоянии здоровья населения;

— устойчивость токсического вещества к воздействию факторов окружающей среды, его накопление в организме, включение в пищевые цепи или в природные процессы циркуляции веществ;

— частота и тяжесть неблагоприятных эффектов, наблюдаемых в состоянии здоровья населения при воздействии токсического агента; при этом особенно важны необратимые или длительно протекающие изменения в организме, приводящие к генетическим дефектам, или другие нарушения развития у потомства;

— постоянный характер действия;

— изменение (трансформация) химического вещества в окружающей среде или организме человека, приводящее к образованию продуктов, имеющих большую, чем исходное вещество, токсичность для человека;

— большая величина популяции населения, подверженного действию химического вещества (вся популяция, профессиональные контингенты или подгруппы, имеющие повышенную чувствительность к воздействию данного токсиканта).

Анализ списка показывает, что около 60 % приоритетных загрязняющих

веществ относится к хлор — и бромсодержащим соединениям. Странами ООН, участвующими в мероприятиях по улучшению и охране окружающей среды, согласован общий перечень наиболее важных (приоритетных) веществ, загрязняющих биосферу. К их числу обычно относят соединения тяжелых металлов, пестициды, полициклические ароматические углеводороды, хлорорганические соединения (ХОС), нефтепродукты, фенолы, детергенты, нитраты. Из этого перечня приоритетных загрязняющих веществ наиболее опасными являются тяжелые металлы, полиароматические углеводороды и хлорорганические соединения.

Выполните кейс задание, заполнив таблицы:

Задание 1. Опишите процесс поступления токсических веществ в организм, распределение, превращение и выделение.

№	Токсикант	Пути поступления в организм	Распределение в организме	Биотрансформация	Пути выведения
1					
2					
3					
4					

Задание 2. Дайте характеристику абиотическим факторам среды на содержание токсических веществ в компонентах биоты.

Абиотический фактор	Токсикант	Эффект влияния абиотического фактора на токсикант

Задание 3. Дайте характеристику биотическим факторам среды на содержание токсических веществ в компонентах биоты.

Биотический фактор	Токсикант	Эффект влияния абиотического фактора на токсикант

Тема 3. Диоксины. Полициклические ароматические углеводороды

Диоксины являются загрязнителями окружающей среды. Они входят в состав "*грязной дюжины*" – группы опасных химических веществ, известных как стойкие органические загрязнители. Диоксины вызывают особое беспокойство в связи с их высоким токсическим потенциалом. Эксперименты показывают, что они воздействуют на целый ряд органов и систем.

Попав в организм человека, диоксины долгое время сохраняются в нем благодаря своей химической устойчивости и способности поглощаться жировыми тканями, в которых они затем откладываются. Период их полураспада в организме оценивается в 7-11 лет. В окружающей среде диоксины имеют тенденцию накапливаться в пищевой цепи. Концентрация диоксинов увеличивается по мере следования по пищевой цепи животного происхождения.

Химическое название диоксина – 2,3,7,8-тетрахлородибензо пара диоксин (ТХДД). Название "диоксины" часто используется для семейства структурно и химически связанных полихлорированных дибензо-пара-диоксинов (ПХДД) и полихлорированных дибензофуранов (ПХДФ).

Некоторые диоксиноподобные полихлорированные бифенилы (ПХБ) с похожими токсическими свойствами также входят в понятие "диоксины". Выявлено 419 типов относящихся к диоксинам соединений, но лишь 30 из них имеют значительную токсичность, а самыми токсичными являются ТХДД.

Диоксины образуются, главным образом, в результате промышленных процессов, но могут также образовываться и в результате естественных процессов, таких как извержения вулканов и лесные пожары. Диоксины являются побочными продуктами целого ряда производственных процессов, включая плавление, отбеливание целлюлозы с использованием хлора и производство некоторых гербицидов и пестицидов. Основными виновниками выбросов диоксинов в окружающую среду часто являются неконтролируемые мусоросжигательные установки (для твердых и больничных отходов) из-за неполного сжигания отходов. Существуют технологии, позволяющие осуществлять контролируемое сжигание отходов при низких выбросах.

Несмотря на локальное образование диоксинов, их распространение в окружающей среде носит глобальный характер. Диоксины можно обнаружить в любой части мира практически в любой среде. Самые высокие уровни этих соединений обнаруживаются в почвах, осадочных отложениях и пищевых продуктах, особенно в молочных продуктах, мясе, рыбе и моллюсках. Незначительные уровни обнаруживаются в растениях, воде и воздухе.

Во всем мире имеются обширные запасы отработанных промышленных масел на основе ПХБ, многие из которых содержат высокие уровни ПХДФ. Длительное хранение и ненадлежащая утилизация этих материалов может приводить к выбросам диоксина в окружающую среду и загрязнению пищевых продуктов людей

и животных. Утилизировать отходы на основе ПХБ без загрязнения окружающей среды и популяций людей не просто. С такими материалами необходимо обращаться как с опасными отходами, и лучшим способом их утилизации является сжигание при высоких температурах в специально оборудованных местах.

Многие страны контролируют пищевые продукты на наличие диоксинов. Это способствует раннему выявлению загрязнения и часто позволяет предотвратить крупномасштабные последствия. Во многих случаях загрязнение диоксинами происходит через загрязненный корм для животных, например случаи повышенного уровня содержания диоксинов в молоке или корме для животных были увязаны с гранулами глины, жиров или цитрусовых, используемых при изготовлении животных кормов.

Некоторые случаи диоксинового загрязнения были более значительными, с более широкими последствиями для многих стран.

В конце 2008 года Ирландия сняла с продажи многочисленные тонны свинины и продуктов из свинины, так как во взятых образцах свинины были обнаружены уровни диоксинов, превышающие безопасный уровень в 200 раз. Это привело к снятию с продажи в связи с химическим загрязнением одной из самых крупных партий пищевых продуктов. Оценки риска, проведенные Ирландией, показали, что проблемы для общественного здравоохранения нет. Было прослежено, что источником загрязнения были зараженные корма.

В 1999 году высокие уровни диоксинов были обнаружены в домашней птице и яйцах из Бельгии. Затем загрязненные диоксином продукты животного происхождения (домашняя птица, яйца, свинина) были обнаружены в некоторых других странах. Источником был корм для животных, загрязненный в результате незаконной утилизации отработанных промышленных масел на основе ПХБ.

В 1976 году на химическом заводе в Севесо, Италия, произошел выброс больших количеств диоксинов. Облако ядовитых химических веществ, включая ТХДД, вырвалось в воздух и, в конечном итоге, заразило территорию в 15 квадратных километров, на которой проживало 37 000 человек.

Экстенсивные исследования среди подвергшегося воздействию населения продолжаются для определения долговременных последствий этого инцидента на здоровье людей.

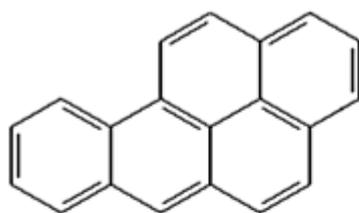
Проводятся также экстенсивные исследования последствий для здоровья ТХДД в связи с его присутствием в некоторых партиях гербицида Эйджент Ориндж (*Agent Orange*), использовавшегося в качестве дефолианта во время войны во Вьетнаме. До сих пор исследуется его связь с определенными типами рака, а также с диабетом.

Несмотря на то, что воздействию диоксинов могут подвергаться все страны, большинство сообщений о случаях загрязнения поступает из промышленно развитых стран, где для выявления проблем, связанных с диоксинами, имеются

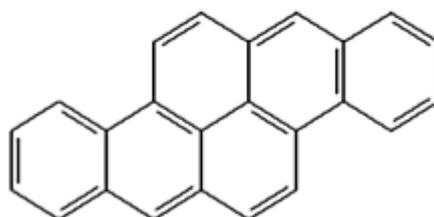
надлежащий мониторинг за загрязнением пищевых продуктов, более высокий уровень осведомленности об опасности и лучшие нормативные средства управления.

Было зарегистрировано также несколько случаев преднамеренного отравления людей. Самым значительным из них является случай отравления Виктора Ющенко, Президента Украины, лицо которого было обезображено хлоракне.

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) являются наиболее опасными экотоксикантами из числа образующихся при производстве энергии химических соединений. В семействе ПАУ насчитываются десятки соединений, отличительным признаком структуры которых является наличие трех или большего числа конденсированных бензольных колец. Из их числа невысокой токсичностью характеризуются *антрацен* и *фенантрен*, а к наиболее токсичным ксенобиотикам относятся 3,4-бенз(а)пирен и дибензпирен, которые обладают выраженными канцерогенными и мутагенными свойствами (рис. 2).



Бензпирен



Дибензпирен

Рисунок 2. Структура молекул 3,4-бенз(а)пирена и дибензпирена

ПАУ обнаруживаются в выхлопных газах двигателей внутреннего сгорания, являются продуктами сжигания угля, дерева, мусора, табака и др. Чем ниже температура горения, тем больше образуется ПАУ.

ПАУ вместе с другими продуктами сгорания поступают в атмосферу, распространяются в окружающей среде и обнаруживаются во всех ее компонентах - воздухе, почве и воде. При комнатной температуре все представители данной группы соединений представляют собой твердые кристаллические вещества с температурой плавления около 200°C. Давление их насыщенных паров невысокое и при охлаждении ПАУ конденсируются и могут оседать непосредственно в зоне выбросов. Тем не менее, их значительная часть в виде аэрозолей может переноситься на значительные расстояния.

Особенно эффективным адсорбентом для ПАУ являются частицы сажи, именно по этой причине загрязненный сажевым аэрозолем городской воздух способен содержать ПАУ больше, чем количество, соответствующее давлению их насыщенного пара (для людей наиболее опасны частицы аэрозоля размером 0,5-5,0 мкм). В присутствии диоксида азота ПАУ могут трансформироваться в нитробензпирены, также обладающие мутагенными свойствами.

Сельскохозяйственные растения могут загрязняться 3,4-бенз(а)пиреном и другими ПАУ как за счет осаждения атмосферной пыли, так и из почвы через корневую систему, что обуславливает высокий риск попадания данных облигатных канцерогенов в трофические цепи. Нормативы содержания ПАУ в питьевой воде учитывают возможность их канцерогенных эффектов. Так, для питьевой воды предельно допустимая концентрация 3,4-бенз(а)пирена по рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) составляет 0,01 мкг/л, в России гигиенические нормативы существенно более жесткие - не более 0,005 мкг/л. Из пищевых продуктов наибольшее содержание 3,4-бенз(а)пирена приходится на шпроты (до 4,1 мкг/кг), копченые птицу (2,1 мкг/кг), рыбу (1,0 мкг/кг) и колбасы (0,5 мкг/кг). Он обнаруживается также в хлебе, овощах, фруктах, растительных маслах, обжаренном кофе, мясных продуктах, поджаренных на древесном угле и др. Значительное загрязнение продуктов питания ПАУ происходит при обработке дымом (например, при сушке). В среднем каждый житель Земли в течение жизни (70 лет) получает с пищевыми продуктами 24-85 миллиграммов 3,4-бенз(а)пирена.

Выполните кейс задание, заполнив таблицы:

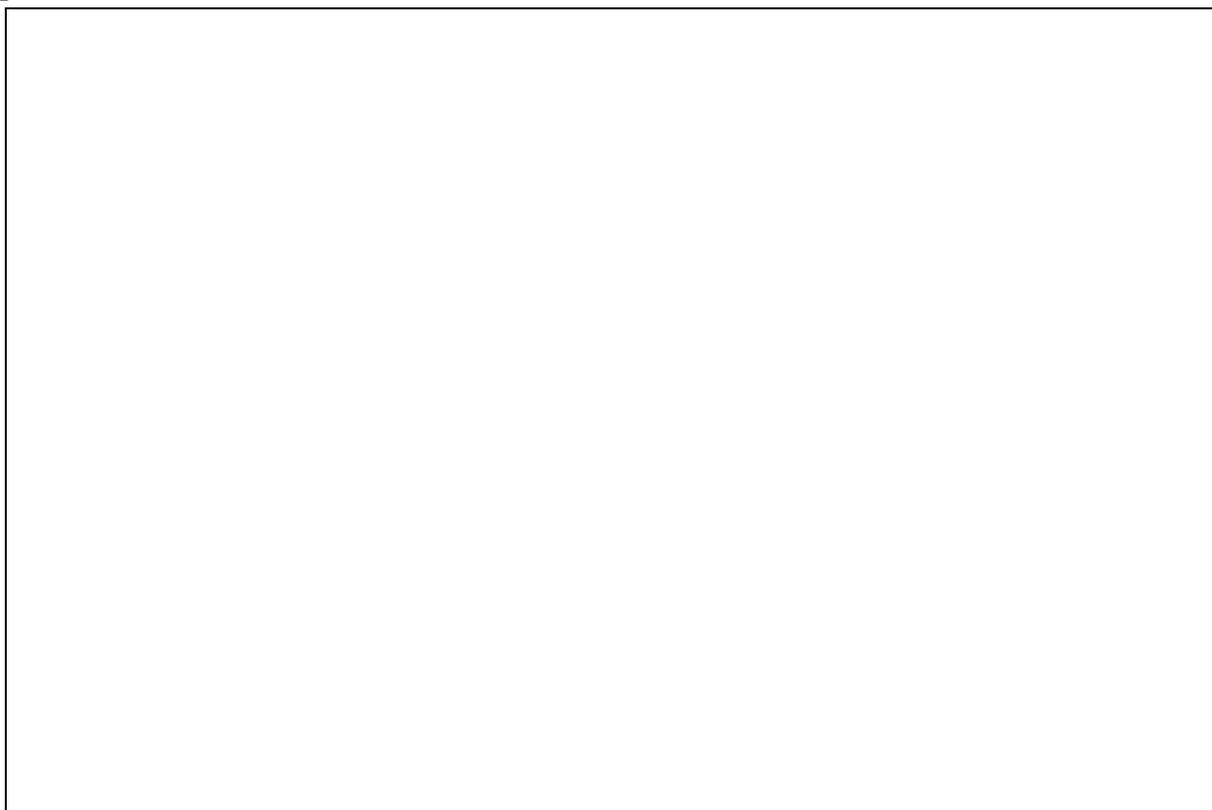
Задание 1. Опишите токсикодинамику интоксикации полихлорированными бифенилами.

--

Задание 2. Опишите токсикодинамику интоксикации тяжелыми металлами (свинец, ртуть).



Задание 3. Опишите санитарно-гигиеническую оценку продуктов убоя при отравлении тяжелыми металлами.



Лабораторная работа 2.

Определение содержания нитратов в различных овощах и фруктах

Нитраты - неотъемлемая часть всех наземных и водных экосистем, поскольку процесс нитрификации, ведущий к образованию окисленных неорганических соединений азота, носит глобальный характер. В то же время, в связи с применением в больших масштабах азотных удобрений, поступление неорганических соединений азота в растения возрастает. Избыточное потребление азота удобрениями не только ведет к аккумуляции нитратов в растениях, но и способствует загрязнению водоемов и грунтовых вод остатками удобрений, в результате чего территория загрязнения сельхозпродукции нитратами расширяется. Однако накопление нитратов в растениях может происходить не только от переизбытка азотных удобрений, но и при недостатке других их видов (фосфорных, калийных и др.) путем частичной замены недостающих ионов нитрат-ионами при минеральном питании, а также при снижении у ряда растений активности фермента нитратредуктазы, превращающего нитраты в белки.

Ввиду этого наблюдается четкое различие видов и сортов растений по накоплению и содержанию нитратов. Существуют, например, виды овощных культур с большим и малым содержанием нитратов. Так, накопителями нитратов являются семейства *тыквенных*, *капустных*, *сельдерейных*. Наибольшее их количество содержится в листовых овощах: петрушке, укропе, сельдерее (табл.2), наименьшее - в томатах, баклажанах, чесноке, зеленом горошке, винограде, яблоках и др. Между отдельными сортами существуют в этом отношении сильные различия. Так, сорта моркови «Шантанэ», «Пионер» отличаются низким содержанием нитратов, а «Нантская», «Лосиноостровская» - высоким. Зимние сорта капусты мало накапливают нитратов по сравнению с летними сортами.

Наибольшее количество нитратов содержится в сосущих и проводящих органах растений - корнях, стеблях, черешках и жилках листьев. Так, у капусты наружные листья кочана содержат в 2 раза больше нитратов, чем внутренние, а в жилке листа и кочерыжке содержание нитратов в 2-3 раза больше, чем в листовой пластинке. У кабачков, огурцов и т.п. плодов нитраты убывают от плодоножки к верхушке.

Таблица 2

Содержание нитратов в сельскохозяйственной продукции и их допустимые уровни (мг/кг сырой массы по нитрат-иону)

Вид растения	Содержание нитратов	Допустимые уровни	
		для открытого грунта	для закрытого грунта
Арбузы	40-600	60	
Баклажаны	80-270		
Брюква	400-550	400	
Горошек зеленый	20-80		
Дыни	40-500	90	
Капуста белокочанная	600-3000	900	
Кабачки	400-700	400	400
Картофель	40-980	250	
Кресс-салат	1300-4900	2000	3000
Лук зеленый	40-1400	600	800
Лук репчатый	60-900	80	
Морковь	160-2200	400	
Огурцы	80-560	150	400
Перец сладкий	40-330	200	400
Петрушка (зелень)	1700-2500	1800	
Редис	400-2700	1500	
Репка	600-900	700	
Салат	400-2900	2000	3000
Свекла столовая	200-4500	1400	
Томаты	10-180	150	300
Укроп	400-2200	2000	3000
Фасоль	20-900		
Чеснок	40-300		
Шпинат	600-4000	1200	
Щавель	240-400		

В результате употребления продуктов, содержащих повышенное количество нитратов, человек может заболеть метгемоглобинией. При этом заболевании ион NO_3 взаимодействует с гемоглобином крови, окисляя железо, входящее в гемоглобин, до трехвалентного, а образовавшийся в результате этого метгемоглобин не способен переносить кислород и человек испытывает кислородную недостаточность: задыхается при физических нагрузках. В желудочно-кишечном тракте избыточное количество нитратов под действием микрофлоры кишечника превращается в токсичные нитриты, а далее возможно превращение их в нитрозоамины - сильные канцерогенные яды, вызывающие опухоли. В связи с этим при употреблении в пищу растений - накопителей нитратов важно нитраты разбавлять и употреблять в малых дозах. Содержание нитратов можно уменьшить вымачиванием, кипячением продуктов (если отвар не используется), удалением тех частей, которые содержат большое количество нитратов.

Допустимые нормы нитратов (по данным ВОЗ) составляют 5 мг (по нитрат-иону) в сутки на 1 кг массы взрослого человека, т. е. при массе **50-60 кг - это 220-300 мг, а при 60-70 кг - 300-350 мг.**

В лабораторной работе изложен метод определения нитратов у различных видов, сортов, тканей и частей овощной продукции, который основан на хорошо известной реакции нитрат-иона с дифениламином. При этом описываются два варианта: с использованием выжатого сока и целых растений.

Цель работы: измерить содержание нитратов в различных овощах и фруктах.

Определение нитратов в соке растений.

Оборудование, реактивы, материалы: ступки малые с пестиками; предметные стекла; марлевые салфетки; части различных овощей, содержащих наибольшее количество нитратов, с неокрашенным соком (капуста, огурцы, кабачки, картофель, дыня и др.), Нитрат-тестер (рис.3).

Ход работы

Разные овощи вымыть и обсушить.

Овощи и плоды расчлняют на следующие части - зона, примыкающая к плодоножке, кожура, периферийная часть, срединная часть, кочерыжка (у капусты), жилки, лист без жилок. Вырезанные части мелко режут ножом и быстро растирают в ступке, сок отжимают через 2-3 слоя марли. 2 капли сока капают на чистое предметное стекло.

Возьмите НИТРАТ-ТЕСТЕР, включите прибор и выберите продукт в меню прибора. Введите щуп и нажмите «ок». Измерение займет 3 секунды. Запишите первоначальные значения ПДК на приборе, а также измеренные значения. Промойте щуп дистиллированной водой и повторите измерения еще 2 раза. Полученные значения занесите в таблицу 3.



Рисунок 3. Измерение нитратов с помощью Нитрат-тестера

Определение нитратов в целых растениях.

Разные овощи вымыть и обсушить. Возьмите НИТРАТ-ТЕСТЕР, включите прибор и выберите продукт в меню прибора. Введите щуп в исследуемый объект и нажмите «ок». Измерение займет 3 секунды. Запишите первоначальные значения ПДК на приборе. Затем, запишите значения, которые получились по исследуемому образцу. Полученные данные занесите в таблицу 3.

Таблица 3

Схема записи по содержанию нитратов в различных овощах и плодах

Исследуемое растение	Часть	Содержание нитратов в целом растении, мг/кг	Содержание нитратов в соке растений, мг/кг
Картофель свежий	а) под кожурой б) серединная часть		
	а) под кожурой б) серединная часть		
	а) под кожурой б) серединная часть		
	а) под кожурой б) серединная часть		

Сформулируйте ответы на следующие **вопросы:**

1. Дайте определение нитратов.

2. Перечислите основные факторы, способствующие накоплению нитратов в растениях?

3. Каковы главные источники поступления нитратов в организм человека?

4. Какие сельскохозяйственные культуры аккумулируют нитраты и в каких частях преимущественно?

5. К каким болезням приводит употребление продуктов, содержащих повышенное количество нитратов?

Тема 4. Механизмы действия токсикантов и их поведение в окружающей среде

В современной литературе приводятся многочисленные примеры механизмов действия химических веществ на живую природу, позволяющие оценить их сложность и неожиданность.

1. **Прямое действие токсикантов**, приводящее к массовой гибели представителей чувствительных видов. Применение эффективных пестицидов приводит к массовой гибели вредителей: насекомых (инсектициды) или сорняков (гербициды). На этом экотоксическом эффекте строится стратегия использования химикатов. Однако в ряде случаев отмечаются сопутствующие негативные явления. Так в Швеции, в 50-60 гг. для обработки семян зерновых культур широко использовали метилртутьдицианамид. Концентрация ртути в зерне составляла более 10 мг/кг. Периодическое склевывание протравленного семенного зерна птицами привело к тому, что через несколько лет была отмечена массовая гибель фазанов, голубей, куропаток и других зерноядных пернатых от хронической интоксикации ртутью.

При оценке экологической обстановки необходимо иметь в виду основной закон токсикологии: чувствительность различных видов живых организмов к химическим веществам всегда различна. Поэтому появление поллютанта в окружающей среде даже в малых количествах может быть пагубным для представителей наиболее чувствительного вида. Так, хлорид свинца убивает дафний в течение суток при содержании его в воде в концентрации около 0,01 мг/л, малоопасной для представителей других видов.

2. **Прямое действие ксенобиотика**, приводящее к развитию аллобиотических состояний и специальных форм токсического процесса. В конце 80-х годов в результате вирусных инфекций в Балтийском, Северном и Ирландском морях погибло около 18 тысяч тюленей. В тканях погибших животных находили высокое содержание полихлорированных бифенилов (ПХБ). Известно, что ПХБ, как и другие хлорсодержащие соединения, такие как ДДТ, гексахлорбензол, диелдрин обладают иммуносупрессивным действием на млекопитающих. Их накопление в организме и привело к снижению резистентности тюленей к инфекции. Таким образом, непосредственно не вызывая гибели животных, поллютант существенно повышал их чувствительность к действию других неблагоприятных экологических факторов.

Классическим примером данной формы экотоксического действия является увеличение числа новообразований, снижение репродуктивных возможностей в популяциях людей, проживающих в регионах, загрязненных экотоксикантами (территории Южного Вьетнама - диоксин).

3. **Эмбриотоксическое действие экополлютантов**. Хорошо установлено, что ДДТ, накапливаясь в тканях птиц, таких как кряква, скопа, белоголовый орлан и др.,

приводит к истончению скорлупы яиц. В итоге птенцы не могут быть высижены и погибают. Это сопровождается снижением численности популяции птиц.

Примеры токсического действия различных ксенобиотиков (в том числе лекарственных препаратов) на эмбрионы человека и млекопитающих широко известны.

4. Прямое действие продукта биотрансформации поллютанта с необычным эффектом. Полевые наблюдения за живородящими рыбами (карпозубые) в штате Флорида позволили выявить популяции с большим количеством самок с явными признаками маскулинизации (своеобразное поведение, модификация анального плавника и т.д.). Эти популяции были обнаружены в реке, ниже стока завода по переработке орехов. Первоначально предположили, что стоки содержат маскулинизирующие вещества. Однако исследования показали, что такие вещества в выбросах отсутствуют: сточная вода не вызывала маскулинизацию. Далее было установлено, что в сточных водах содержался фитостерон, (образуется в процессе переработки сырья), который попав в воду реки подвергался воздействию обитающих здесь бактерий и превращался при их участии в андроген. Последний и вызывал неблагоприятный эффект (рис. 4).

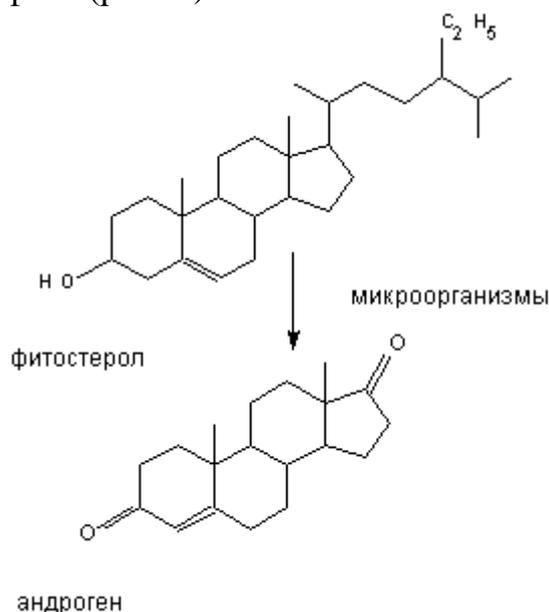


Рисунок 4. Превращение фитостерола в андроген при участии микроорганизмов

Таким образом, взаимодействие ксенобиотика с биотическим компонентом среды (микроорганизмы) может стать причиной существенных популяционных эффектов в биоценозе.

5. Опосредованное действие путем сокращения пищевых ресурсов среды обитания. Для борьбы с вредителями лесного хозяйства, гусеницами елового листовертки-почкоеда в одном из регионов Канады применили фосфорорганический пестицид, быстро деградирующий в среде. В результате резкого снижения числа

Тема 5. Промышленные токсиканты

Влияние химических веществ на работающих возможно при многих видах производственной деятельности: получении и переработке природного сырья, изготовлении промышленной продукции, работе на транспорте, в сельском хозяйстве и др. Наибольшая возможность контакта с разными веществами возможна в химической промышленности, так как нередко сырье, промежуточные соединения и конечные продукты способны оказать вредное влияние на здоровье работающих. В таких отраслях промышленности, как горнорудная, машиностроительная, нефтяная, легкая и многие другие, немало производственных участков, где используются или выделяются при определенных операциях химические вещества, которые поступая внутрь организма или загрязняя кожные покровы, могут вызвать отравления. Например, при добыче и первичной переработке нефти, могут возникать отравления сероводородом и углеродами, при взрывных работах в горнорудной и угольной промышленности – окисью углерода и окислами азота, в металлургической промышленности - окисью углерода, сернистым газом, парами некоторых металлов, в машиностроении – цианистыми соединениями, парами кислот, растворителями, на транспорте – выхлопными газами двигателей внутреннего сгорания, в сельском хозяйстве – ядохимикатами, удобрениями и т.д. Вредные вещества, действующие на состояние здоровья работающих в промышленности, сельском хозяйстве, транспорте и других отраслях, следует рассматривать как профессиональные или производственные яды. К ним относятся химические вещества, которые в виде сырья, промежуточных или готовых продуктов используются в условиях производства и при поступлении в организм вызывают в нем патологические изменения. Производственные яды могут приводить как к выраженным профессиональным заболеваниям, так и к временно компенсированным нарушениям, повышению общей неспецифической заболеваемости и снижению резистентности организма к влиянию факторов окружающей среды.

Промышленные токсиканты – это вредные химические вещества, используемые в промышленности, либо получаемые в результате производственного процесса на любом его этапе.

Производственными (промышленными) называют яды, которые влияют на организм человека в условиях трудовой деятельности и вызывают ухудшение работоспособности или нарушения здоровья – профессиональные или производственные отравления.

В настоящее время перечень производственных ядов включает несколько сот токсических веществ, многие из которых обладают высокой токсичностью (табл.4).

Примеры промышленных токсикантов

Неорганические вещества	Органические вещества
Простые вещества: металлы и неметаллы (Hg, Pb, As)	Углеводороды и их галогенопроизводные: метан, этан, дихлорэтан, четыреххлористый углерод
	Спирты и гликоли: метанол, этиленгликоль
Соединения металлов (соли ТМ)	Эфиры, альдегиды и кетоны, диоксан, формальдегид, ацетон
	Циклические и гетероциклические (амидо- и нитросоединения бензола (фенол, хлорированные нафталины, фенилгидразин, пиридин)
Соединения неметаллов (кислоты, основания, цианиды, гидрид As)	Элементоорганические соединения: фосфорорганические, хлорорганические)
	Полимеры: акрилопласты, фенопласты, эпоксидные смолы

Наиболее часто яды проникают в кровь через органы дыхания. Таким способом происходит поступление токсичных веществ в виде газов, паров, аэрозолей.

Проникновение ядов через желудочно-кишечный тракт происходит как правило с питьевой водой или пищей. Классическим примером такого пути может служить поступление свинца. Это – мягкий металл, он легко стирается, загрязняет руки, не отмывается водой и при еде и курении может попасть в полость рта.

Всасывание ядов через кожу тоже является распространенным путем поступления промышленных ядов в организм человека. Через кожу в организм человека могут проникать углеводороды ароматического и жирного ряда, фосфорорганические и металлоорганические соединения.

К факторам, которые влияют на проникновение веществ через кожу, относятся температура, площадь поверхности контакта с веществами, снабжение кровью, метаболизм. Например, при работе в условиях высокой температуры воздуха, когда кровообращение кожи значительно усиливается, количество отравлений через кожу увеличивается.

Тема 6. Экотоксикокинетика

Экотоксикокинетика – раздел экотоксикологии, рассматривающий судьбу ксенобиотиков (экополлютантов) в окружающей среде: источники их появления; распределение в абиотических и биотических элементах окружающей среды; превращение ксенобиотика в среде обитания; элиминацию из окружающей среды.

Многочисленные процессы, происходящие в окружающей среде, направлены на элиминацию (удаление) экополлютантов. Многие ксенобиотики, попав в воздух, почву, воду, приносят минимальный вред экосистемам, поскольку время их воздействия ничтожно мало. Вещества, оказывающиеся резистентными (устойчивыми) к процессам разрушения и вследствие этого длительно персистирующие в окружающей среде, как правило, являются потенциально опасными экотоксикантами.

Постоянный выброс в окружающую среду персистирующих поллютантов приводит к их накоплению, превращению в экотоксиканты для наиболее уязвимого (чувствительного) звена биосистемы. После прекращения выброса персистирующего токсиканта он еще длительное время сохраняется в среде. Так, в воде озера Онтарио в 90-е годы определяли высокие концентрации пестицида «Мирекс», использование которого было прекращено еще в конце 70-х годов. В водоемах испытательного полигона ВВС США во Флориде, где в 1962–1964 годах был с исследовательскими целями распылен Оранжевый Агент, спустя 10 лет ил содержал 10–35 нг/кг ТХДД (при норме, по стандартам США – 0,1 пкг/кг, России – 10 пкг/кг).

Таблица 5

Период полуразрушения некоторых ксенобиотиков в окружающей среде

Поллютант	Период полуразрушения	Среда
ДДТ	10 лет	Почва
ТХДД	9 лет	Почва
Атразин	25 месяцев	Вода (РН 7,0)
Фенантрен	138 дней	Почва
Карбофуфан	45 дней	Вода (рН 7,0)
Фосфорилтиохолины	21 день	Почва (t + 15 ⁰)
Иприт	7 дней	Почва (t + 15 ⁰)
Зарин	4 часа	Почва (t + 15 ⁰)

К числу веществ, длительно присутствующих в окружающей среде, относятся тяжелые металлы (свинец, медь, цинк, никель, кадмий, кобальт, сурьма, ртуть, мышьяк, хром), полициклические полигалогенированные углеводороды (полихлорированные дибензодиоксины и дибензофураны, полихлорированные бифенилы и т.д.), некоторые хлорорганические пестициды (ДДТ, гексахлоран, алдрин, линдан и т.д.) и многие другие вещества.

Абиотическая трансформация. На стойкость вещества в окружающей среде

влияет большое количество процессов. Основными являются фотолиз (разрушение под влиянием света), гидролиз, окисление.

Биотическая трансформация. Абиотическое разрушение химических веществ обычно проходит с малой скоростью. Значительно быстрее деградируют ксенобиотики при участии биоты, особенно микроорганизмов (главным образом бактерий и грибов), которые используют их как питательные вещества. Процесс биотического разрушения идет при участии энзимов. В основе биопревращений веществ лежат процессы окисления, гидролиза, дегалогенирования, расщепления циклических структур молекулы, отщепление алкильных радикалов (деалкилирование) и т.д. Деградация соединения может завершаться его полным разрушением, т.е. минерализацией (образование воды, двуокиси углерода, других простых соединений). Также возможно образование промежуточных продуктов биотрансформации веществ, обладающих порой более высокой токсичностью, чем исходный агент. Загрязнитель с высоким значением давления пара может легко испаряться из воды и почвы, а затем перемещаться в другие регионы с током воздуха. Это явление лежит в основе повсеместного распространения относительно летучих хлорорганических инсектицидов, таких как линдан и гексахлорбензол. Перемещение ветром и атмосферными течениями частиц токсикантов или почвы, на которых адсорбированы вещества, также важный путь перераспределения поллютантов в окружающей среде. В этом плане характерен пример полициклических ароматических углеводородов (бензпирены, дибензпирены, бензантрацены, дибензантрацены и др.). Бензпирен и родственные ему соединения как естественного (главным образом вулканического), так и антропогенного происхождения (выброс металлургического, нефтеперерабатывающего производств, предприятий теплоэнергетики и т.д.) активно включаются в биосферный круговорот веществ, переходя из одной среды в другую. При этом, как правило, они связаны с твердыми частицами атмосферной пыли. Мелкодисперсная пыль (1-10 мкм) длительно сохраняется в воздухе, более крупные пылевые частицы достаточно быстро оседают на почву и в воду в месте образования. При этом, чем выше выброс, тем на большее расстояние рассеиваются поллютанты. Сорбция веществ на взвешенных частицах в воде с последующим осаждением приводит к их элиминации из толщи воды, но накоплению в донных отложениях. Осаждение резко снижает биодоступность загрязнителя. Перераспределению водорастворимых веществ способствуют дожди и движение грунтовых вод.

Сформулируйте ответы на **вопросы** в письменном виде:

1. Какие превращения претерпевают загрязняющие вещества в окружающей среде?

Лабораторная работа 3.

Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы

Тяжелые металлы оказывают токсическое действие на микроорганизмы. Катионы тяжелых металлов легко взаимодействуют с различными электрондонорными группами в составе многих органических соединений, образуя комплексы с гидроксильными, карбоксильными, фосфатными и аминогруппами, а также ковалентные связи с сульфгидрильными группами белков. Таким образом, токсическое действие тяжелых металлов носит неспецифический характер, поэтому они способны соединяться с белками, нуклеотидами, коферментами, фосфолипидами, порфиринами, т.е. практически со всеми типами веществ, участвующими в метаболизме клеток. Кроме того, взаимодействуя с группировками активного центра ферментов микроорганизмов или замещая в них отдельные ионы, тяжелые металлы вызывают ингибицию их активности. Говоря об антропогенном воздействии на биоту, следует упомянуть, что многие металлы в микроконцентрациях необходимы для жизнедеятельности почвенной биоты (Zn, Cu, Mn, Co, Cr и др.), однако в больших концентрациях они становятся токсичными, а ряд металлов высокотоксичны в малых концентрациях (Ag, Pb, Hg, Cd и др.) и могут, так или иначе, влиять на биоценозы.

В настоящее время активно исследуются вопросы, связанные с влиянием металлов на почвенные микроскопические грибы. Известно, что загрязнение почвы тяжелыми металлами может или угнетать сообщество микроскопических грибов в почве или стимулировать их развитие. Например, стронций в некоторых видах почв резко повышает токсинообразование и стимулирует рост грибов рода *Fusarium*. Наибольший токсический эффект в отношении почвенной биоты установлен для кадмия (Cd), наименьший - для свинца (Pb).

В постоянно загрязняемых промышленными выбросами почвах микромицеты способны накапливать Cu и Ni в количестве 0,3-1,5% сухой биомассы. Такая способность грибов позволила ряду авторов предложить использовать те или иные микромицеты как виды- биоиндикаторы загрязнения почв тяжелыми металлами. Загрязнение почвы тяжелыми металлами приводит к изменению структуры грибных сообществ, что выражается обычно в снижении видового разнообразия, доминировании видов грибов, толерантных к металлам, по сравнению с сообществами сходных почв из географических районов, не загрязненных металлами.

Цель работы: оценить влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы.

Оборудование, реактивы, материалы: чашки Петри, небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения солей; пипетки мерные на 10 мл; растворы солей тяжелых металлов с различной концентрацией: CuSO_4 (ПДК 0,004 мг/л),

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,03 мг/л), $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,0005 мг/л), KMgO_4 (ПДК 0,01 мг/л); образец почвы.

Ход работы

Из первоначального раствора соли тяжелого металла методом последовательных разбавлений в 5 раз готовятся растворы с концентрацией 0,1 М, 0,02 М, 0,004 М, 0,0008 М, 0,00016 М, 0,000032 М (рис.5). В качестве контроля используют дистиллированную воду.

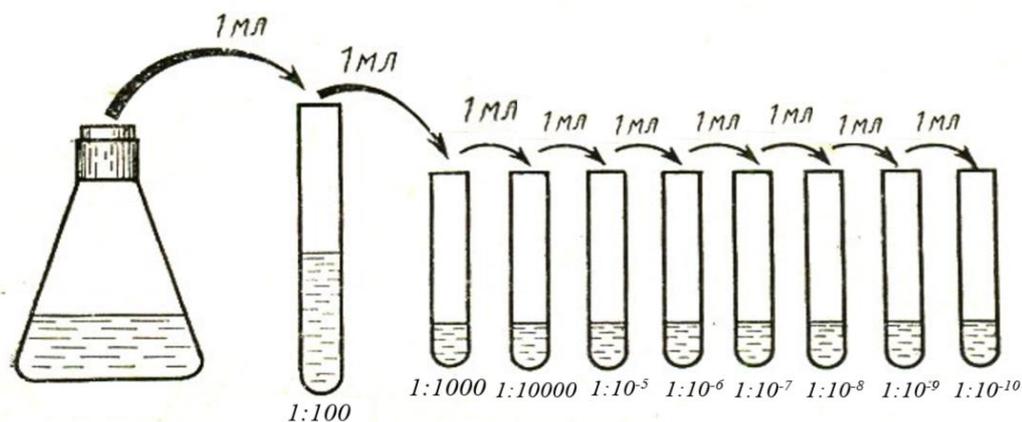


Рисунок 5. Приготовление рабочего раствора методом разведения

В чашки Петри вносят слой почвы толщиной 0,5 см, затем вливают по 9–10 мл исследуемых солей. Поверх почвы накладывают кружок фильтровальной бумаги диаметром 5 см. Чашки подписывают и помещают в термостат при температуре 20–22 °С на 7 дней. В процессе культивирования следят за тем, чтобы поверхность бумаги не высыхала. При необходимости ее смачивают небольшим количеством дистиллированной воды, чтобы избежать изменения концентрации солей.

На следующем занятии аккуратно вынимают кружки бумаги, осторожно отмывают от комочков земли и оценивают результаты. Бактерии, разрушающие клетчатку, всегда присутствующие в почве, в результате своей жизнедеятельности выделяют окрашенные продукты. Плесневые грибки рода *Аспергилл* (*Aspergillus*) проявляют желтую окраску, а грибки рода *Триходерма* (*Trichoderma*) – темно-зеленую. По размеру и характеру окрашивания можно судить об активности микроорганизмов.

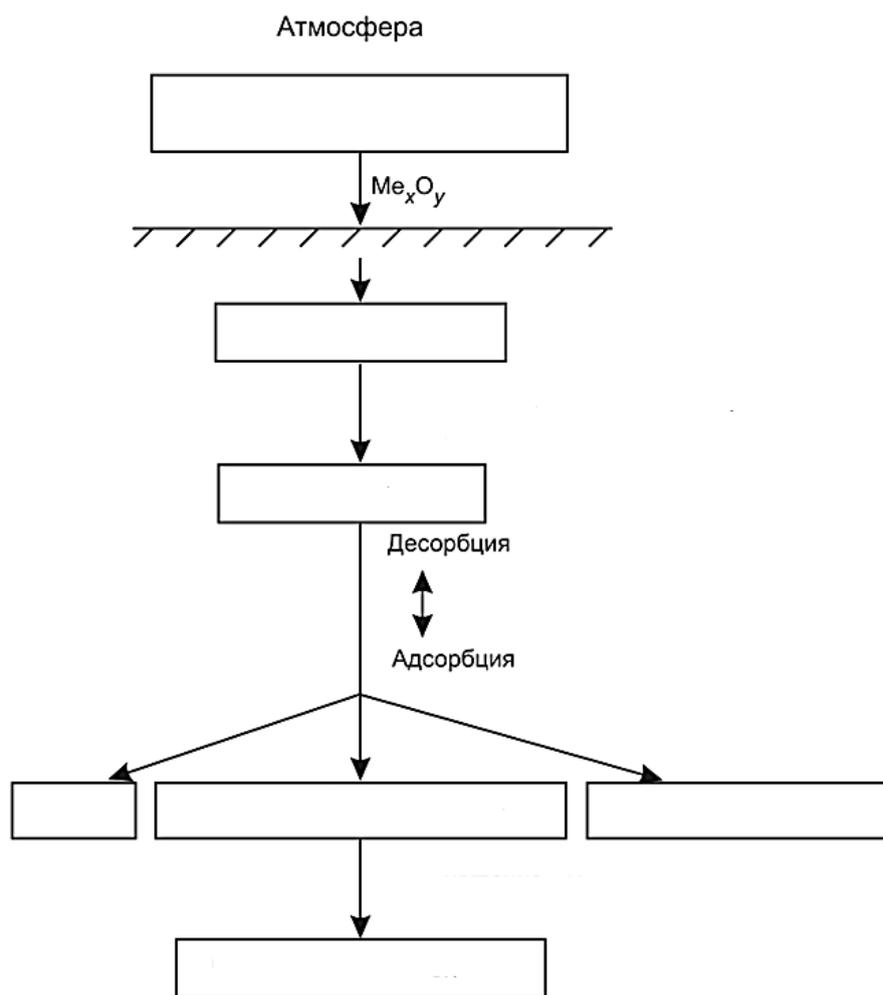
Изображение пятен переносится на кальку, и определяется площадь окрашивания.

На основании полученных результатов составляется график зависимости активности микроорганизмов от концентрации тяжелых металлов в почве. Делают выводы о том, какая соль тяжелых металлов проявляет наибольшую токсичность.

Ответьте письменно

1. Приведите примеры основных почвенных микроорганизмов.

4. Заполните рисунок пути миграции тяжелых металлов в почве



Тема 7. Пищевые добавки

Пищевые добавки — это вещества, добавляемые прежде всего в обработанные продукты питания или другие виды пищевой продукции, производимые в промышленных масштабах, для достижения технических целей, например для повышения безопасности, увеличения срока хранения продуктов питания или изменения их органолептических свойств.

Как правило, пищевые добавки не употребляются в пищу сами по себе и обычно не используются в качестве типичных ингредиентов пищевого продукта. Большинство минимально обработанных и необработанных продуктов питания не содержат пищевых добавок.

Прежде чем пищевые добавки будут допущены к использованию, их проверяют на предмет нанесения потенциального вреда здоровью человека.

За оценку безопасности пищевых добавок отвечают компетентные органы на национальном, региональном и международном уровнях.

Международным органом, ответственным за оценку безопасности пищевых добавок для использования в пищевых продуктах, предназначенных для международной торговли, является Объединенный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам (ОКЭПД).

Со временем для удовлетворения потребностей крупномасштабной пищевой промышленности было разработано множество различных пищевых добавок. Добавки включаются в состав продуктов для того, чтобы обработанные продукты питания оставались безопасными и сохранялись в хорошем состоянии на протяжении всего пути от производств или промышленных кухонь до складов и магазинов и, наконец, до потребителей. Добавки также используются для изменения органолептических свойств продуктов питания, включая вкус, запах, текстуру и внешний вид.

Пищевые добавки можно получать путем экстракции из растений, животных или минералов либо методом химического синтеза. Существует несколько тысяч пищевых добавок, каждая из которых предназначена для выполнения определенной функции. В зависимости от выполняемой функции пищевые добавки можно разделить на три большие категории.

Ароматизаторы — это химические вещества, которые придают продукту питания определенный запах или аромат и добавляются в пищу для изменения ее запаха или вкуса. Они являются наиболее распространенным типом добавок, используемых в пищевых продуктах, и объединяют сотни разновидностей, добавляемых в самые разные продукты питания — от кондитерских изделий и безалкогольных напитков до хлопьев, тортов и йогуртов. Ароматизаторы можно извлекать из природных источников (например, веществ растительного или животного происхождения) или получать с помощью химического синтеза. Ароматизаторы, извлеченные непосредственно из природных источников, часто

называют натуральными ароматизаторами. Такие ароматизаторы также могут являться продуктом химического синтеза, но при этом иногда характеризуются как изготовленные натуральным способом или идентичные натуральным; это означает, что, хотя молекула ароматизатора как таковая встречается в природе, она была получена не путем экстракции из природного источника, а синтезирована как идентичная натуральной. Искусственные ароматизаторы — это химические вещества, которые не встречаются в природной среде, а синтезируются для имитации натуральных ароматизаторов или побуждения других вкусовых ощущений. Кулинарные ингредиенты, включая специи, орехи и сушеные фрукты или овощи, также могут изменять аромат или вкус продукта, но при этом, как правило, не считаются ароматизаторами.

Ферментные препараты представляют собой такой тип добавки, который может попасть или не попасть в конечный пищевой продукт. Ферменты — это встречающиеся в природе белки, которые ускоряют биохимические реакции, расщепляя крупные молекулы на более мелкие строительные блоки. Их можно получить путем экстракции из растений, продуктов животного происхождения или микроорганизмов, таких как бактерии, и использовать в качестве альтернативы химическим технологиям. Они в основном используются в выпечке (для улучшения теста), при изготовлении фруктовых соков (для увеличения объема на выходе), в виноделии и пивоварении (для улучшения брожения), а также при производстве сыра (для оптимизации процесса створаживания).

Другие пищевые добавки используются по разным причинам, например для консервации, окрашивания и подслащивания. Они добавляются при приготовлении, упаковке, транспортировке или хранении пищевого продукта и в конечном итоге становятся компонентом пищи.

Консерванты могут замедлить процесс порчи продуктов от воздействия плесени, воздуха, бактерий или дрожжей. Помимо сохранения качества пищи, консерванты помогают бороться с загрязнением, которое способно вызвать болезни пищевого происхождения, включая опасный для жизни ботулизм.

Красители добавляются в пищевой продукт для восстановления цветности, утраченной во время обработки или другого производственного процесса, или для придания продукту более привлекательного вида.

Подсластители, не содержащие сахар, часто используются в качестве сахарозаменителей, поскольку при добавлении в пищу обеспечивают меньший или нулевой приток калорий. ВОЗ выпустила рекомендацию, согласно которой подсластители, не содержащие сахар, вообще не следует использовать, поскольку, согласно фактическим данным, они не способствуют долгосрочной потере или поддержанию веса и могут повышать риск инфекционных заболеваний.

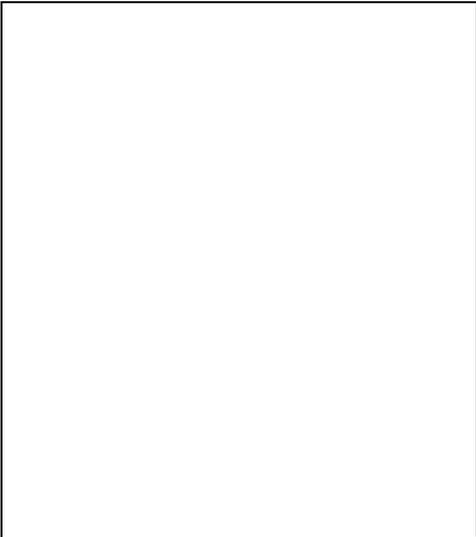
Задание

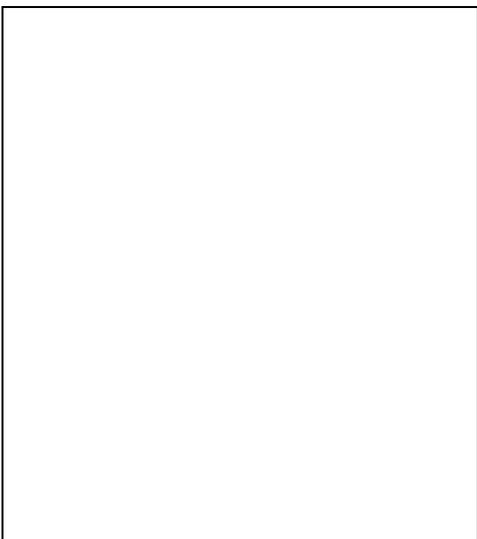
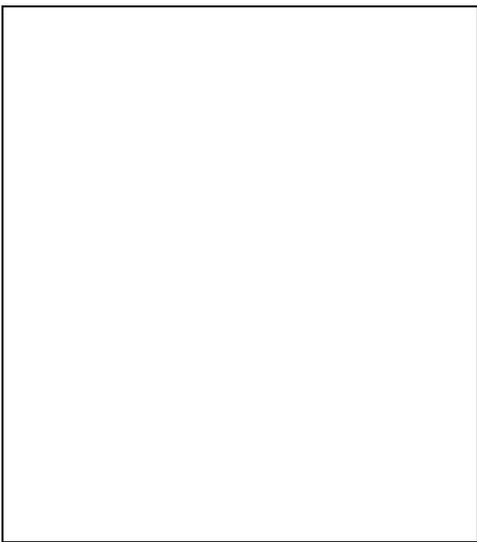
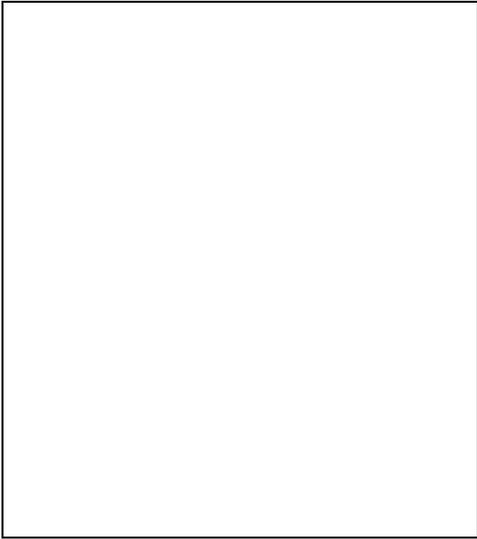
Составьте свою продуктовую корзину. Изучите состав продуктов, отметьте наличие или отсутствие пищевых добавок. Полученные значения оформите в следующем виде:



Состав: сахар, какао тертое, масло какао, сухое цельное молоко, сухая молочная сыворотка, молочный жир, эмульгаторы (лецитин соевый, E476), ароматизатор ванилин идентичный натуральному. Содержит молочные продукты, лецитин соевый. Может содержать следы арахиса, других орехов и пшеницы.

Лецитин соевый - это важный компонент, который играет роль в структуре клеток организма и помогает улучшать метаболизм, снижать уровень холестерина и улучшать работу печени. Кроме того, может помочь улучшить память, концентрацию и физическую выносливость.







Тема 8. Микотоксины

Микотоксины – это, низкомолекулярные соединения, метаболиты микроскопических токсигенных грибов, относящихся к различным классам химических веществ.

Основные группы, в состав которых входят наиболее распространенные микотоксины:

- кумарины;
- ксантоны;
- лактоны.

В группу кумаринов входят следующие *микотоксины*:

- афлатоксины (В₁, В₂, М₁, М₂, G₁, G₂);
- охратоксины (А, В, С).

В группу *ксантонов*:

+ стеригматоцистин.'

В группу лактонов:

- * патулин;
- * рубратоксин.

Микробные токсины обладают устойчивостью к высоким температурам (температура плавления афлатоксина В₁ 268-269°C), длительному ультрафиолетовому облучению, некоторые устойчивы к действию кислот и щелочей.

Микотоксины хорошо растворяются в органических растворителях (спиртах, ацетонитриле, ацетоне, бензине) и плохо - в воде.

Один и тот же гриб может синтезировать несколько токсинов и наоборот - несколько грибов могут образовывать один и тот же токсин.

Большинство видов токсигенных грибов - сапрофиты. Однако встречаются и грибы-паразиты. Среди них трибы из рода *Fusarium*, которые обладают широким спектром токсичности - к ним не устойчива ни одна зерновая культура.

подавляющее большинство микотоксинов являются экзотоксинами, т.е.

выделяются грибами во внешнюю среду, в субстрат, а не находятся в структуре гриба.

Поэтому даже после удаления грибного мицелия представляют опасность для живых организмов (человека).

Токсические свойства многих видов грибов, развивающихся на продовольственных культурах и кормах, впервые начали изучать в XVII в., когда были установлены ядовитые свойства “рожков” (склероциев) спорыньи, развивающихся на ржи и других злаках и приводящие к возникновению эпидемии эрготизма сельскохозяйственных животных.

В конце XIX-начале XX вв. было установлено токсическое действие гриба *Fusarium graminearum* на людей. При использовании зерна, зараженного этим

грибом, возникал эффект “пьяного хлеба”. Этот эффект вызывается нейротропным действием токсинов гриба, сходным с действием алкоголя.

Более 50 лет известен цитризин, поражающий лошадей. В 1961 г. впервые был выделен афлатоксин, который явился причиной гибели около 119 тыс. голов домашней птицы - индюшат, утят, куропаток, фазанов в Великобритании.

Следует отметить, что среди идентифицированных микотоксинов афлатоксин (В1) на сегодняшний день наиболее изучен, хотя в целом экология грибных токсинов изучена крайне слабо.

Микроскопические грибы растут повсеместно из-за высокой устойчивости спор, находящихся в почве, растениях, зерне и даже воздухе.

Общее количество видов грибов в мировой микофлоре составляет от 300 до 200000, в том числе видов плесеней - от 160 до 300, из них токсиногенных— около 50%.

Токсины обнаружены у таких родов грибов, как *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, причем частота встречаемости составляет 24-30%.

Предполагается, что существует более 2000 различных микотоксинов, из них идентифицировано 400. Из изученных микотоксинов 47 высокотоксичные; 15 - с канцерогенными и мутагенными свойствами:

- афлатоксины В₁ и М₁
- диоксиниваленон (ДОН);
- зеараленон;
- охратоксин А;
- патулин;
- пеницилловая кислота;
- стеригматоцистин.

В организм человека микотоксины могут поступать несколькими путями: при употреблении загрязненных продуктов питания растительного и животного происхождения, при вдыхании зараженного воздуха, а также посредством контакта с источниками микотоксинов через кожные покровы. Аналогичным путем заражаются и животные.

Задание

1. Какими отличительными свойствами обладают микотоксины?

3. Перед Вами расположены грибы и микотоксины в случайном порядке. Расставьте правильно против каждого гриба его специфический микотоксин.

<i>Грибы</i>
1) <i>Asp. flavus</i>
2) <i>Fus. nivale</i>
3) <i>Asp. ochraceus</i>
4) <i>Penic. expansum</i>
5) <i>Fus. graminearum</i>

<i>Микотоксины</i>
А) Зеараленон
Б) Охратоксин
В) Ниваленол
Г) Афлатоксин
Д) Патулин

Библиографический список

1. Баширов, В.Д. Промышленная токсикология (курс лекций): учебное пособие./В.Д. Баширов, Оренбургский гос.университет- Оренбург: ОГУ, 2012.- 84 с.
2. Жирнова, Д. Ф. Основы экотоксикологии : учебное пособие / Д. Ф. Жирнова. — Красноярск : КрасГАУ, 2014. — 226 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/187067>
3. Жуйкова, Т. В. Экологическая токсикология : учебник и практикум для вузов / Т. В. Жуйкова, В. С. Безель. — Москва : Издательство Юрайт, 2024. — 362 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-06886-3. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/54018>
4. Каплин В. Г. Основы экотоксикологии. -М.: КолосС, 2006.- 232 с.: ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).
5. Максимов, Г. Г. Промышленная токсикология : учебное пособие для вузов / Г. Г. Максимов. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2024. — 182 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-14791-9. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/544368>
6. Мосина Л.В. Агроэкология. Модуль 7. Сельскохозяйственная экотоксикология. Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2000 г. 184 с.
7. Основы токсикологии. Лабораторный практикум: методические указания для выполнения лабораторных работ по курсу «Основы токсикологии» для студентов I курса направления 20.03.01 «Техносферная безопасность» / сост.: А.Г. Мальчик; Юргинский технологический институт. – Юрга: Типография ООО «МедиаСфера», 2016. – 14 с.
8. Практикум по экологии для бакалавров направления 050100 / С. Г. Баранов, С. Ю. Морев, Т. С. Бибик ; Владим. гос.ун-т имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2013. – 188 с.
9. Практическая экотоксикология: оценка чувствительности биотесткультур: Учебное пособие / сост. Е.в. Федосеева, Н.Ю. сапункова, в.А. Терехова / Под ред. в.А. Тереховой / М.: ГЕОС, 2016 – 54 с.
10. Стекольников, Н. В. Практикум по основам экотоксикологии : учебное пособие / Н. В. Стекольников. — Воронеж : ВГАУ, 2018. — 124 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/178942>
11. Токсикология: промышленные и экологические аспекты: учеб. пособие / В.М. Смирнова [и др.]; Нижегород. гос. техн. ун-т им. Р.Е. Алексеева. – Нижний Новгород, 2019. – 240 с.

12. Хаустов, А. П. Экологический мониторинг : учебник для вузов / А. П. Хаустов, М. М. Редина. — 3-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2024. — 549 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-16676-7. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/531471>
13. Экологическая токсикология: методические указания для практических занятий и по выполнению самостоятельной и контрольной работы / состав.: Е.А. Тянь, Г.А. Котомина. — 2-е изд., перераб. и доп. / Новосиб. гос. аграр. ун-т. — Новосибирск. — 2022. — 83 с.
14. Павлова, Е. И. Общая экология : учебник и практикум для вузов / Е. И. Павлова, В. К. Новиков. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2024. — 167 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-16177-9. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/538288>
15. Шилов, И. А. Экология : учебник для вузов / И. А. Шилов. — 7-е изд. — Москва : Издательство Юрайт, 2024. — 539 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-09080-2. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/535653>

Учебное издание

**Бузылёв Алексей Вячеславович
Илюшкова Елена Михайловна
Леонова Юлия Валерьевна
Жигалева Ярослава Сергеевна**

ОСНОВЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

Рабочая тетрадь

Подписано в печать 30.10.2024г. формат 60×90/16
Печать офсетная. Гарнитура Times New Roman
Объем 3,75 п.л. Тираж 500 экз. Заказ 128

Издательство ИП Якунина Василиса Алексеевна

Отпечатано в типографии
РИА «Калужский Печатный Двор»
248021, г. Калуга, ул. Московская, 247, корпус 65
тел.: +7(910) 5-999-888