

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування

Навчально-науковий інститут агроекології та землеустрою
Кафедра екології, технології захисту навколишнього
середовища та лісового господарства

05-02-352М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання лабораторних робіт
з навчальної дисципліни «Екотоксикологія»
для здобувачів вищої освіти другого
(магістерського) рівня
за освітньо-професійною програмою «Технології захисту
навколишнього середовища» спеціальності
183 «Технології захисту навколишнього середовища»
денної та заочної форм навчання

Рекомендовано
Науково-методичною радою з
якості ННІАЗ
Протокол № 1 від 29.08.2023 р.

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Екотоксикологія» для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня за освітньо-професійною програмою «Технології захисту навколишнього середовища» спеціальності 183 «Технології захисту навколишнього середовища» денної та заочної форми навчання [Електронне видання] / Ліхо О. А., Вознюк Н. М., Турчина К. П. – Рівне : НУВГП, 2023. – 38 с.

Укладачі: Ліхо О. А. , к. с.-г. н., професор кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства; Вознюк Н. М., к. с.-г. н., професор кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства; Турчина К. П., к. с.-г. н., доцент кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства.

Відповідальний за випуск: Клименко М. О. , д. с.-г. н., завідувач кафедри екології, технології захисту навколишнього середовища та лісового господарства

Керівник групи забезпечення спеціальності 183 «Технології захисту навколишнього середовища»: Прищеп А. М., д. с.-г. н., професор

© О. А. Ліхо , Н. М. Вознюк,
К.П. Турчина, 2023
© Національний університет
водного господарства та
природокористування, 2023

ЗМІСТ

| | |
|--|----|
| 1. <i>Лабораторна робота № 1.</i> Класифікація та характеристика основних екотоксикантів | 4 |
| 2. <i>Лабораторна робота № 2.</i> Визначення кумулятивних властивостей токсичних речовин | 10 |
| 3. <i>Лабораторна робота № 3.</i> Визначення вмісту нітратів в сирих рослинних зразках з використанням нітратоміра | 15 |
| 4. <i>Лабораторна робота № 4.</i> Визначення гемолітичної отрути (соланіну) в картоплі | 22 |
| 5. <i>Лабораторна робота № 5.</i> Вивчення токсикологічного впливу типових забруднювачів повітря на живі організми | 26 |
| 6. <i>Лабораторна робота № 6.</i> Біотестування методом проростків | 34 |
| <i>Література</i> | 38 |

Лабораторна робота № 1

КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНИХ ЕКОТОКСИКАНТІВ

Мета: Ознайомитись теоретичною частиною та класифікацією токсикантів. Згідно варіанту навести розгорнуту характеристику хімічних речовин, що є екотоксикантами.

Основні поняття

1. *Екотоксикологія* – розділ токсикології, що вивчає ефекти впливу токсичних речовин на екосистеми і їх кругообіг в біосфері, особливо в харчових ланцюгах. Екологічна токсикологія вивчає джерела надходження токсикантів в природні біосистеми, токсичні ефекти дії хімічних речовин на живі організми, а також стійкість і функціонування біосистем надорганізменного рівня в умовах їх токсичного забруднення.

Найважливішою характеристикою хімічних речовин з позиції екотоксикології є їх екотоксична небезпека – потенційна здатність в конкретних умовах викликати ушкодження біологічних систем при потраплянні в навколишнє середовище.

Токсикометрія (грец. *toxicon* – отрута + *metreo* – виміряю) – це сукупність методів і прийомів досліджень для кількісної оцінки токсичності й небезпеки шкідливих речовин.

Токсикант – це окремий чи комплексний чинник з притаманними лише йому фізичними, хімічними, фізико-хімічними та медико-біологічними властивостями, який здатний викликати патологічні зміни при попаданні в окремий організм та порушення функціонування екологічних систем в цілому.

Теоретично не існує речовин, позбавлених токсичності. У певних умовах обов'язково виявляється

біологічний об'єкт, який реагує на дію хімічної речовини в окремих дозах пошкодженням, порушенням функцій або взагалі загибеллю.

Суперекотоксиканти – хімічні сполуки, які навіть в невеликій кількості володіють високою персистентністю і кумуляцією; можуть спричиняти мутагенну, тератогенну і канцерогенну дію на живі організми. (токсична дія поліфункціонального характеру)

Часто в екотоксикології використовують термін ксенобіотик (від грец. «іноземець») – чужорідна для біосфери хімічна речовина, що природно не синтезується і не може асимілюватись організмами, внаслідок чого не бере участь у природному кругообігу речовин, а тому вільно накопичується у компонентах довкілля. До них належать пластмаси, препарати побутової хімії, промислові забруднювачі, лікарські засоби, пестициди тощо.

Сукупність чужорідних речовин, які містяться у навколишньому середовищі (воді, ґрунтах, повітрі та живих організмах) у формі (агрегатному стані), що дозволяє їм активно вступати в хімічні і фізико-хімічні взаємодії із біологічними об'єктами екосистем, складають ксенобіотичний профіль біогеоценозу.

Екотоксиканти можуть спричиняти пряму (токсичну) або непряму (опосередковану) дію на живі організми. Під прямою дією розуміють безпосереднє ураження організмів певної (або декількох) популяції екотоксикантами (або їх сукупністю) відповідного ксенобіотичного профілю середовища.

Опосередкована дія токсикантів проявляється, зазвичай, внаслідок дії ксенобіотичного профілю на біотичні або абіотичні елементи, коли умови і ресурси середовища перестають бути оптимальними для існування популяції.

Слід зазначити, що більшість токсикантів здатні спричиняти одночасно як пряму, так і опосередковану дію. В такому випадку їх характеризують як токсиканти змішаної дії.

При інтоксикації організму виділяють періоди: (1) контакту з речовиною, (2) прихований, (3) загострення і (4) період одужання.

Залежно від тривалості взаємодії хімічної речовини і організму інтоксикації можуть бути гострими і хронічними.

Гострою називається інтоксикація, що розвивається в результаті одноразової або повторної дії речовини протягом обмеженого періоду часу (зазвичай не більше доби). Гострі отруєння характеризуються: надходженням в організм отрути в порівняно великих кількостях (при аваріях, помилковому прийомі всередину, розбризкуванні тощо); яскравими клінічними проявами безпосередньо в момент надходження або через невеликий (звичайно не більше декількох годин) прихований (латентний) період. Хронічні отруєння виникають поступово, при тривалій дії отрут, що проникають в організм у відносно невеликих кількостях, малими дозами через деякі проміжки часу або хаотично.

2. Класифікація токсикантів

На даний час відомо тисячі хімічних речовин, які можна класифікувати за наступними принципами:

1. Походження:

(а) токсиканти природного походження:

біологічні (бактеріальні токсини, рослинні отрути, отрути тваринного походження);

неорганічні сполуки (метали у складі руд та мінералів; оксиди сірки, галогени, сірководень при вулканічній активності, монооксид і діоксид вуглецю, оксиди сірки і азоту, сажа – при лісових пожежах);

органічні сполуки *небіологічного* походження (пірен, бенз(а)пірен та ін., джерелами яких є поклади вугілля, нафти, вулканічна діяльність);

(б) синтетичні токсиканти (пестициди, діоксини).

2. Спосіб використання людиною:

- інгредієнти хімічного синтезу та спеціальних видів виробництв;
- пестициди;

- ліки і косметика;
- харчові добавки;
- палива і мастила;
- розчинники, барвники, клеї;
- обічні продукти хімічного синтезу, домішки і відходи.

3. *Умови впливу:*

- забруднювачі навколишнього середовища (повітря, води, ґрунту, харчових продуктів);
- професійні (виробничі) токсиканти;
- побутові токсиканти;
- шкідливі звички й уподобання (тютюн, алкоголь, наркотичні засоби);
- уражаючі фактори (аварійного та катастрофічного походження, бойові отруйні речовини).

4. *Агрегатний стан:* рідкі, газоподібні, тверді.

5. *Хімічний склад:* оксиди, кислоти, луги, солі, важкі метали, органічні речовини (альдегіди, спирти, нітрозоз'єднання).

6. *Дисперсний стан:* молекулярно-іонні, колоїдні, грубодисперсні (суспензії, емульсії, аерозолі).

7. *Рівень токсичності (згідно з європейською класифікацією):*

- практично не токсичні;
- злегка токсичні (етанол);
- мало токсичні (хлорид натрію);
- сильно токсичні (фенобарбітал);
- надзвичайно токсичні;
- супертоксичні (діоксин).

8. *Прояв дії:*

- фізіологічні;
- психофізіологічні;
- цитогенетичні;
- мутагенні;

- тератогенні;
- канцерогенні та ін.

9. Характер впливу:

- психотропної дії (наркотики: кокаїн, опій),
- бойові отруйні речовини (зарин, заман);
- нервово-паралітичної дії (карбофос, зарин);
- шкірно-резорбтивної дії (дихлоретан, ртуть, миш'як);
- загально-токсичної дії (ціаністий водень, алкоголь і його сурогати);
- задушливої дії (оксиди азоту, фосген);
- сльозоточивої та дратівної дії (хлорпікрин, бойові отруйні речовини, пари сильних кислот і лугів).

10. Ознаки «вибіркової токсичності»:

- серцеві токсиканти – викликають порушення серцевого ритму і ураження серцевого м'яза (серцеві глікозиди, солі барію, калію);
- нервові токсиканти – викликають психічні порушення, паралічі, кому (наркотики, фосфорорганічні сполуки, алкоголь);
- печінкові отрути – викликають ураження печінки (отруйні гриби, феноли);
- ниркові отрути – викликають ураження нирок (сполуки важких металів, щавлева кислота);
- кров'яні отрути – викликають руйнування еритроцитів, змінюють властивість гемоглобіну зв'язуватися з киснем крові (нітрити, миш'яковистий водень);
- шлунково-кишкові отрути – вражають різні відділи шлунково-кишкового тракту (сполуки важких металів, сильні кислоти і луги);
- легеневі отрути – вражають легені, викликають їх набряк (оксиди азоту).

Хід роботи

1. Навести характеристику хімічних речовин, обраних згідно варіанту із таблиці 1, за наступними пунктами:

1.1. назва речовини;

1.2 хімічна формула;

1.3. фізико-хімічні властивості;

1.4. джерела надходження у навколишнє середовище;

1.5. використання в господарській діяльності;

1.6. шляхи надходження в організм людини;

1.7. механізми токсичної дії на людину та тварин (на які органи, тканини або процеси в організмі впливає; критичні органи чи системи; наявність прояву специфічної дії: мутагенність, канцерогенність, тератогенність тощо);

1.8. прояви гострого отруєння;

1.9. ознаки хронічного отруєння;

1.10. нормування (ГДК в різних середовищах);

1.11. клас небезпеки;

1.12. заходи безпеки.

2. Оформити детальний опис хімічних речовин на листах формату А4 чи в робочому зошиті.

Таблиця 1

Вихідні дані для виконання
індивідуального завдання

| Варіант | Речовини | |
|---------|--------------|------------------|
| 1 | Бенз(а)пірен | Хром |
| 2 | Радон | Ртуть |
| 3 | Мідь | Нікель |
| 4 | ДДТ пестицид | Свинець |
| 5 | Ацетон | Стронцій |
| 6 | Кобальт | Аміак |
| 7 | Цинк | Марганець |
| 8 | Діоксин | Фтор |
| 9 | Миш'як | Діоксид сірки |
| 10 | Кадмій | Хлор |
| 11 | Залізо | Синильна кислота |

| | | |
|----|---------------|----------------|
| 12 | Діоксид азоту | Іприт |
| 13 | Алюміній | Фосген |
| 14 | Олово | Вінілхлорид |
| 15 | Метан | Барій |
| 16 | Йод | Хлороформ |
| 17 | Фосфор | Ванадій |
| 18 | Сірководень | Бензол |
| 19 | Чадний газ | Ацетилен |
| 20 | Нітрат натрію | Хлорацетофенон |

Питання для самоперевірки

1. Що вивчає екологічна токсикологія?
2. Чим відрізняються поняття «токсикант», «екотоксикант», «ксенобіотик», «суперекотоксикант»?
3. Що представляє собою «ксенобіотичний профіль» навколишнього середовища?
4. Дайте визначення екотоксикантів прямої, непрямой та змішаної дії. Наведіть приклади.
5. Охарактеризуйте види інтоксикації організму.
6. Наведіть найпоширеніші ознаки, за якими класифікують токсиканти.

Лабораторна робота № 2

ВИЗНАЧЕННЯ КУМУЛЯТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН

Мета роботи: Оцінити кумулятивні властивості хімічної речовини, яка обирається згідно варіанту, за величиною коефіцієнта кумуляції. Охарактеризувати отруйні властивості хімічної речовини за величиною індексу кумуляції.

Основні поняття

Одним з провідних факторів, що обумовлюють розвиток хронічного отруєння, є процес кумуляції (накопичення, біоаккумуляції, депонування) в організмі самої отрути або викликаних нею змін.

Кумуляція може мати місце при комплексоутворенні шкідливої речовини і міцному зв'язуванні її в певному місці організму. Так, наприклад, накопичення радіоактивного стронцію в кістках, йоду в щитовидній залозі, важких металів у нирках, накопичення деяких хлорорганічних інсектицидів в жировій тканині і т.п.

Вивчення кумулятивної дії перш за все необхідно при вирішенні завдань з охорони навколишнього середовища, оскільки часто виникають ситуації, коли надзвичайно незначні кількості речовин діють протягом тривалого часу (а іноді протягом життя одного або декількох поколінь) шляхом накопичення або концентрації в трофічних ланцюгах живлення.

При вивченні наслідків трагедії Мінамата, пов'язаної з масовим отруєнням ртуттю, було відмічено, що при переході між трофічними ланцюгами «вода – планктон – птах – людина» концентрація ртуті зростала в 105 разів, тобто в 10 разів на кожній ділянці ланцюга.

Особливо важливо питання оцінки кумулятивних властивостей для промислової токсикології, тому ступінь кумуляції враховується при переході від експериментальних даних, отриманих в «хронічному» досліді, до гранично допустимих концентрацій (чим вище кумулятивні властивості отрути, тим нижче гранично допустима концентрація, що попереджає хронічне отруєння).

Кількісна оцінка кумулятивних властивостей шкідливих речовин здійснюється за величиною коефіцієнта кумуляції та індексу кумуляції.

Коефіцієнт кумуляції (K_k) – відношення сумарної дози отрути, що викликає певний ефект (частіше смертельний) у

50% піддослідних тварин при багаторазовому добовому введенні, до величини дози, що викликає той же ефект при одноразовому впливі:

$$K_k = \sum DL_{50} / DL_{50}$$

Залежно від частоти повторних дослідів і величини повторної дози ефект, зазвичай, може бути різним.

Ступінь кумуляції (C_k) – величина, зворотна інтенсивності кумуляції: чим вона менше, тим кумуляція більше.

$$C_k = \frac{1}{K_k} \cdot 100\%$$

Ступінь кумулятивних властивостей шкідливої речовини характеризує реальну небезпеку хронічної інтоксикації, тому коефіцієнт кумуляції повинен враховуватися при гігієнічній регламентації шкідливих речовин в повітрі робочої зони.

Для порівняльної оцінки здатності отрут до кумуляції за величиною K_k та C_k запропонована відповідна класифікація (табл. 1).

Таблиця 1
Класифікація токсикантів за здатністю до кумуляції

| Класифікація кумулятивної дії | Границі K_k | Границі C_k , % |
|-------------------------------|---------------|-------------------|
| Зверхкумуляція | <1 | >100 |
| Виражена кумуляція | 1 - 3 | 100 - 46 |
| Середня кумуляція | 3 - 5 | 45 - 20 |
| Слабка кумуляція | >5 | <20 |

Таким чином, чим більше числове значення K_k наближається до одиниці, тим більш вираженою є кумулятивна дія речовини. При $K_k > 5$ кумуляція практично не проявляється.

Про кумулятивні властивості можна також судити лише за результатами гострого дослідів, використовуючи індекс кумуляції I_k :

$$I_k = 1 - \frac{DL_{50(1)}}{DL_{50(14)}}$$

де $DL_{50(1)}$ – доза, розрахована за результатами загибелі тварин в перший день дослідю; $DL_{50(14)}$ – те ж протягом 14 днів.

Якщо величини $DL_{50(1)}$ і $DL_{50(14)}$ збігаються, тобто всі піддослідні тварини гинуть в перший же день, то індекс кумуляції дорівнює нулю і речовина не кумулюється в організмі. При пізній загибелі тварин він наближається до одиниці, що свідчить про прояв кумулятивних властивостей шкідливої речовини. Наприклад, фосфорорганічні пестициди викликають загибель тварин протягом першої години, тому вони мало кумулятивні, а хлорорганічні пестициди викликають загибель протягом двох-трьох діб і пізніше – такі препарати володіють досить високими кумулятивними властивостями.

Приклад визначення кумулятивних властивостей хімічних речовин.

Завдання: визначте кумулятивні властивості промислової отрути, якщо загибель 50% тварин спостерігалася при наступних умовах: протягом першої доби при введенні одноразово 48 мг/кг та при 3-х кратному введенні 1/10 DL_{50} ; а також при надходженні отрути протягом 12 днів у кількості 17 мг/кг.

Розв'язання.

1. Розраховуємо сумарну дозу при повторних введеннях хімічної речовини:

$$\sum DL_{50} = 3 \cdot \frac{1}{10} DL_{50} = 3 \cdot \frac{48}{10} = 14,4 \text{ мг/кг}$$

2. Знаходимо коефіцієнт кумуляції K_k та ступінь кумуляції C_k :

$$K_k = \frac{\sum DL_{50}}{DL_{50}} = \frac{14,4}{48} = 0,3$$

$$C_k = \frac{1}{0,3} \cdot 100\% = 3,3 \cdot 100\% = 333\%$$

3. Знаходимо індекс кумуляції I_k :

$$I_k = 1 - (17/48) = 0,65$$

Висновок: дана промислова отрута відноситься до зверхкумулятивних речовин (табл. 1), від яких загибель тварин розтягнута в часі.

Хід роботи

1. Вивчити особливості розвитку хронічного отруєння.

2. Розрахувати коефіцієнт, ступінь та індекс кумуляції для хімічної речовини, згідно варіанту.

3. Оцінити кумулятивні властивості хімічної речовини за величиною коефіцієнта кумуляції (табл. 1).

4. Охарактеризувати отруйні властивості хімічної речовини за величиною індексу кумуляції.

5. Оформити розрахунки.

6. Захистити роботу і відповіді на контрольні питання.

Таблиця 2

Вихідні дані для розрахунків

| Варіант | Одноразова доза, мг/кг | Кратність введення отрути/доза введення, мг/кг | Тривалість надходження отрути, діб | Кількість отрути, мг/кг |
|---------|------------------------|--|------------------------------------|-------------------------|
| 1 | 34 | 3 / 1/8 | 10 | 14 |
| 2 | 53 | 4 / 1/5 | 12 | 15 |
| 3 | 42 | 6 / 1/14 | 8 | 12 |
| 4 | 57 | 4 / 1/6 | 7 | 15 |
| 5 | 78 | 4 / 1/9 | 9 | 20 |
| 6 | 61 | 5 / 1/7 | 11 | 16 |
| 7 | 69 | 3 / 1/6 | 8 | 7 |

| | | | | |
|----|----|----------|----|----|
| 8 | 81 | 5 / 1/10 | 9 | 11 |
| 9 | 49 | 3 / 1/8 | 10 | 14 |
| 10 | 44 | 2 / 1/5 | 7 | 13 |

Питання для самоперевірки

1. Охарактеризуйте поняття кумуляції хімічних речовин.
2. Що представляє собою матеріальна кумуляція?
3. В чому полягають особливості функціональної кумуляції?
4. Опишіть закономірності концентрування токсикантів у трофічних ланцюгах.
5. Які показники використовують для кількісної оцінки кумулятивних властивостей шкідливих речовин?
6. Як характеризуються токсиканти за здатністю до кумуляції?

Лабораторна робота № 3

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ НІТРАТІВ В СИРИХ РОСЛИННИХ ЗРАЗКАХ З ВИКОРИСТАННЯМ НІТРАТОМІРА

Мета роботи: визначити вміст нітратів у сирих рослинних зразках з використанням нітратоміра та порівняти отримані значення з гранично допустимим вмістом (ГДВ).

Основні поняття

Нітрати (солі азотної кислоти) є широко розповсюдженими токсичними забруднювачами. Основними джерелами такого забруднення є нітратні добрива, органічні речовини, що розкладаються,

промислові та побутові відходи. Нітрати накопичуються у воді та продуктах харчування і потрапляють в організми тварин і людей. 80% нітратів надходить з їжею, переважно з рослинними продуктами.

На інтенсивність поглинання нітратів рослинами впливають біологічні та сортові особливості рослин, мінеральне живлення і фактори навколишнього середовища, які визначають рівень нітратного живлення і співвідношення азоту до амонію, співвідношення азоту до аміаку, баланс азоту, фосфору, калію і мікроелементів та ступінь засвоєння рослиною, родючість і вологість ґрунту та повітря, температура, інтенсивність і тривалість освітлення тощо.

Існує понад 20 факторів, які сприяють накопиченню нітратів у сільськогосподарській продукції. За даними дослідницьких інститутів Німеччини, Чехії та інших країн, на накопичення нітратів значною мірою впливають добрива (47%) і меншою мірою - умови року (29%) та сорти рослин (24%).

Фактори ґрунту і навколишнього середовища (волога, світло, температура повітря і ґрунту) діють в комплексі, посилюючи або послаблюючи один одного, що ускладнює визначення впливу окремих факторів. Поглинання нітратів рослинами збільшується при високій інтенсивності світла. За низьких температур поглинання нітратів зменшується. Висока вологість ґрунту збільшує поглинання нітратів.

Види і сорти рослин значно відрізняються за здатністю накопичувати нітрати і нітрити. Деякі овочеві культури мають високий і низький вміст нітратів. Наприклад, багато видів у родинях патисонів, капусти та селери накопичують нітрати. Найвищі концентрації спостерігаються в листових овочах, а найнижчі – в помідорах, баклажанах, винограді та яблуках. Ранньостиглі

овочі містять більше нітратів, ніж пізньостиглі. Фрукти та ягоди накопичують мало нітратів.

Нітрати нерівномірно розподіляються по всій рослині. Наприклад, у картоплі нітрати найбільше накопичуються в бульбах і менше-в листі, тоді як у петрушці та кропі їх менше накопичується в листі. Вміст нітратів збільшується від листової пластинки до черешка, а потім до стебла. Наприклад, у листі петрушки, селери та кропу вміст нітратів на 50-60% менший, ніж у стеблах. Суцвіття цвітної капусти містять на 70% менше нітратів, ніж качани. У листовій пластинці білокачанної капусти на 30-40% менше, ніж у потовщеному черешку і на 60-70% менше, ніж у качані. Серцевина і кінчик буряка містять в 10 разів менше нітратів, ніж центр, а верхівка кабачка-вдвічі більше, ніж стебло. Для баклажанів ці показники ще більш виражені. Бадилля моркви містить на 80% менше нітратів, ніж середина. В огірках і редисці в шкірці накопичується на 70% більше нітратів, ніж у внутрішніх шарах. Це означає, що, як і у випадку з динями та кавунами, зрізання зовнішньої шкірки з цих овочів може зробити ці продукти більш якісними (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл нітратів в органах зелених рослин (мг/кг)

| Досліджувана частина рослини | Рослинний зразок | | |
|------------------------------|------------------|----------|------|
| | Шпинат | Коріандр | Кріп |
| Корінь | 74 | 90 | 384 |
| Стебло | 833 | 163 | 487 |
| Черешок листа | 814 | 165 | 441 |
| Лист | 213 | 14 | 95 |

Виведено певні сорти рослин, які протягом життя накопичують у своїх тканинах невелику кількість нітратів і нітритів. Вирощуючи і споживаючи такі сорти, ми отримуємо високоякісний продукт. Згідно з дослідженнями

професора А. Бороцького, вміст нітратів у плодах огірка залежить не тільки від сортових особливостей, а й від розміру. Плоди довжиною 7,1-12 см мають найменший вміст нітратів (56-140 мг/кг), тоді як менші плоди (пікулі, корнішони) - приблизно вдвічі більше (61-249 мг/кг) (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст нітратів залежно від розміру огірка

| Сорт | Довжина плода, см | | | | |
|---------------|------------------------------------|-------|-------|--------|---------|
| | 3-5 | 5,1-7 | 7,1-9 | 9,1-12 | 12,1-14 |
| | Вміст нітратів, мг/кг сирової маси | | | | |
| «Харківській» | 249 | 111 | 111 | 56 | 39 |
| «Кустовський» | 187 | 61 | 45 | 67 | 44 |
| «Витязь» | 125 | 99 | 140 | 111 | 71 |

Відомо, що нітрати мають широкий спектр токсичного впливу на організм людини, особливо дітей. Їх токсична проявляється у кисневому голодуванні тканин, яке розвивається в результаті порушення транспорту кисню в крові. Це призводить до підвищення рівня метгемоглобіну в крові та розвитку ціанозу. Тривалий вплив нітратів призводить до гіпоксії організму.

Встановлено, що при збалансованому раціоні на овочі припадає 70-90% добової кількості нітратів. Їх використовують як консерванти та харчові добавки у виробництві ковбас і сирів, формуючи їх колір і смак.

У зв'язку з цим для зменшення навантаження на здоров'я людини необхідні заходи з регулювання та постійного контролю вмісту нітратів в об'єктах довілля, зокрема в продуктах харчування.

В таблиці 3 наведено вміст нітратів в овочах та плодах (в середньому по Україні).

Таблиця 3

Вміст нітратів в овочах та плодах
(в середньому по Україні)

| Овочі, плоди | Середня масова частка нітратів, мг/кг |
|----------------------------|---------------------------------------|
| Картопля | 108,7 ± 6,5 |
| Капуста білоголова | 337,7 ± 33,3 |
| Буряки столові | 1049 ± 168,3 |
| Морква | 253,2 ± 9,7 |
| Огірки у відкритому ґрунті | 165,5 ± 12,9 |
| Огірки у захищеному ґрунті | 237,8 ± 41,3 |
| Томати | 76,4 ± 3,1 |
| Кавуни | 37,9 ± 12,8 |
| Дині | 83,3 ± 8,3 |
| Цибуля-перо | 381,6 ± 31,4 |
| Цибуля ріпчаста | 237,9 ± 41,3 |
| Яблука | 39,7 ± 5,3 |
| Томати | 144 ± 16,7 |

Основним гігієнічним показником для розрахунку гранично допустимого вмісту нітратів у продуктах харчування є добова допустима кількість нітратів – 5 мг/кг маси тіла людини.

Для здоров'я людини небезпечний є не сам нітрат, а нітрит, який утворюється з нітрату в кишковому тракті людини і тварин та під час зберігання рослинної продукції. Саме нітрити та вторинні аміни мають небажаний вплив на здоров'я людей і тварин. Вживання питної води, що містить надмірну кількість нітратів, спричиняє отруєння та перетворення гемоглобіну на метгемоглобін у крові людей і тварин.

Вміст нітратів і нітритів у м'ясних продуктах коливається від 0,47 до 4,5 мг/кг і значною мірою обумовлюється технологією виробництва. Вміст нітратів у

молоці залежить від пори року. Восени він значно вищий, а максимальний вміст спостерігається в липні та серпні. Кількість нітратів у молоці ввечері вища, ніж у молоці вранці. Під час переробки молока нітрати переходять у молочну сироватку. Середня кількість нітратів у сироватці коливається від 7,34 до 47,3 мг/кг, тоді як у молоці – від 3,94 до 6,5 мг/кг.

Обладнання: нітратомір, досліджувані зразки, скальпель.

Хід роботи

1. Ознайомитись з будовою та принципом роботи нітратоміра. Налаштувати прилад до роботи.

2. Підготувати рослинний зразок до аналізу. Для цього коренеплоди (плоди) миємо водою, витираємо чистою тканиною досуха. Підготовлені овочі та фрукти розрізаємо на частини – ближче до стебла, центральну та периферійну частини, знімаємо шкірку.

3. Визначаємо вміст нітратів у зразках за допомогою нітратоміра. Необхідно зробити кілька вимірювань для кожного зразка. Результати вимірів заносимо у таблицю 4.

Таблиця 4

Результати дослідження

| Досліджуваний зразок* | Частина рослини | Масова частка нітратів, мг/кг | | Висновок |
|-----------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------|----------|
| | | у сирій продукції | після термообробки | |
| Картопля | під шкіркою | | | |
| | середина | | | |
| Капуста | жилки | | | |
| | кочережка | | | |
| | лист | | | |
| Огірки | | | | |

*Примітка: асортимент продуктів можна змінювати.

5. Одержані результати порівнюємо з гранично допустимим залишковим вмістом (ГДВ) нітратів у продуктах рослинництва.

Таблиця
Гранично допустимий вміст нітратів в продукції
рослинництва (мг/кг сирової продукції) [1]

| Продукти рослинництва | ГДВ |
|---|------|
| <i>Овочі відкритого ґрунту</i> | |
| Картопля | 250 |
| Капуста | 500 |
| Морква | 250 |
| Томати | 150 |
| Огірки | 150 |
| Буряки столові | 1400 |
| Цибуля ріпчаста | 80 |
| Цибуля-перо | 600 |
| Редис, редька | 1200 |
| Баклажани | 300 |
| Перець солодкий | 200 |
| Кабачки | 400 |
| Дині | 90 |
| Кавуни | 60 |
| Листові овочі (салат, шпинат, щавель, селера, кріп, петрушка капуста салатна і т. д.) | 2000 |
| Яблука, груші, виноград столових сортів | 60 |
| <i>Захищений ґрунт</i> | |
| Огірки | 300 |
| Цибуля-перо | 800 |
| Листові овочі | 3000 |
| Перець солодкий | 400 |
| <i>Ранні (до 1.09.)</i> | |
| Капуста білокачанна | 900 |
| Морква | 400 |

Лабораторна робота № 4

ВИЗНАЧЕННЯ ГЕМОЛІТИЧНОЇ ОТРУТИ (СОЛАНІНУ) В КАРТОПЛІ

Мета роботи: встановити наявність гемолітичної отрути (солонину) в картоплі за якісною реакцією та органолептичною пробою.

Основні поняття

Отруєння отруйними рослинами - друга за поширеністю форма отруєння продуктами рослинного походження, перш за все алкалоїдами. Алкалоїди - це органічні основи, а в рослинах містяться солі винної, яблучної, мурашиної, щавлевої та оцтової кислот. Кількість алкалоїдів та їхній склад варіюється залежно від виду рослини, а також від частини однієї і тієї ж рослини. Найбільше алкалоїдів міститься в плодах, листі та коренях рослин. Одна й та сама рослина може містити різну кількість алкалоїдів. Вміст алкалоїдів також залежить від пори року і природних умов місцевості (складу ґрунту, вологості і кліматичних особливостей). Найбагатшими на алкалоїди є рослини родин макових, жовтецевих, лютикових та баклажанових.

Алкалоїди є надзвичайно біологічно активними речовинами, а їхній вплив на організм людини дуже складний і багатогранний. Наприклад, алкалоїд, що видобувається з беладони є також поширеним допінгом, який міститься в ліках, у складі якого є атропін. Він викликає розширення зіниці очей, прискорює пульс і знижує тонус гладкої мускулатури. Перевищення допустимої дози атропіну викликає гостру інтоксикацію, включаючи раптове рухове збудження, тахікардію, сухість шкіри та слизових оболонок.

Велика кількість кісточкових фруктів (абрикосів, персиків і вишень) та гіркого мигдалю, який містить амігдалін, може спричинити отруєння ціанідами. Тому використання гіркого мигдалю в кондитерських виробках обмежене. Заборонено тривале настоювання плодів зі шкіркою при виготовленні домашнього вина. Клінічні симптоми отруєння включають головний біль, нудоту, блювоту, судоми і проблеми з диханням. Ціанід не утворюється під час термічної обробки, тому вживання варення з кісточкових фруктів є безпечним.

При неправильному зберіганні в деяких овочах можуть накопичуватися токсичні речовини, що спричиняє повне або часткове отруєння. Відомі випадки отруєння пророслою (зеленою) картоплею. Під впливом прямих сонячних променів за неправильних умов зберігання картопля накопичує велику кількість токсичної речовини - соланіну (рис. 1).

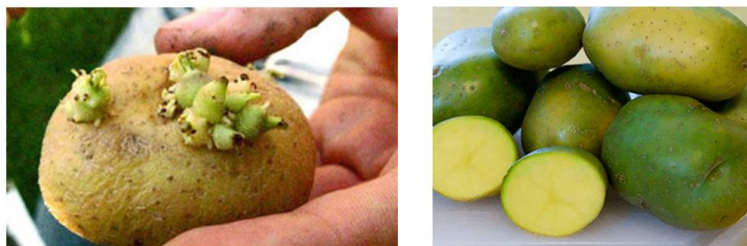


Рис. 1. Картопля з підвищеним вмістом соланіну

Соланін ($C_{45}H_{75}NO_{15}$) – азотовмісний глюкозид (глюкоалкалоїд). Це гемолітична отрута. Назва отрути походить від латинського *solanum*, що означає «паслін». Отрута була виявлена в рослинах у 1820 році, але механізм її утворення та роль у метаболізмі рослин залишаються незрозумілими. Деякі вчені вважають, що, як і інші алкалоїди, соланін необхідний для захисту молодих пагонів від тварин.

Картопля природним чином виробляє соланін і пов'язаний з ним глікоалкалоїд чаконін для захисту від комах, бактеріальних захворювань і трав'яних тварин. Листя і стебла картоплі зазвичай містять досить високі концентрації цих речовин. Соланін міститься в бульбах картоплі у кількості 2-10 мг/%. Однак у незрілих (зелених) і старих бульбах, що проростають, вміст соланіну набагато вищий, доходючи до 100 мг/%. Особливо високі концентрації соланіну спостерігаються в проростках картоплі (до 500 мг/%). Бульби картоплі зеленіють під впливом світла, збільшуючи вироблення глікоалкалоїдів, в тому числі соланіну. Це природна захисна реакція, яка допомагає запобігти вживанню в їжу бульб, що знаходяться на поверхні ґрунту. Зелений колір обумовлений появою хлорофілу, який сам по собі нешкідливий, але це позеленіння в основному є показником підвищеної концентрації соланіну, який накопичується в лушпинні. Деякі інфекційні захворювання, такі як фітофтороз, викликають швидке збільшення концентрації соланіну в бульбах картоплі, що є природним захистом від патогену. Сорти картоплі, що використовуються в сільському господарстві, перевіряються на вміст соланіну.

Вживання продуктів з високим вмістом соланіну може спричинити сильне отруєння. Після вживання зеленої або пророслої картоплі може з'явитися гіркий присмак у роті, печіння язика та подразнення горла. Потім з'являються нудота, блювота і діарея. При отруєнні соланіном у дорослих і дітей неприємні симптоми з'являються при дозах 200-400 мг. Ознаки отруєння зникають через 1-2 дні.

Соланін пригнічує нервову систему, порушує роботу шлунково-кишкового тракту і руйнує клітини крові. При виведенні з організму він негативно впливає на нирки та шкіру. У майбутньому можуть розвинути захворювання печінки та нирок.

Обладнання та реактиви: розчини H_2SO_4 (конц.) та ацетатної кислоти (80-90%), H_2O_2 (5%), чашки Петрі скляні,

скальпель, піпетки, скляні стаканчики, фільтрувальний папір. Зразки для дослідження: бульби картоплі різних сортів та одного сорту, що мали різні умови зберігання.

Хід роботи

І. Якісна реакція.

Для якісного виявлення вмісту соланіну в плодах картоплі використовують кольорову реакцію Нілова.

1. З бульби картоплі роблять кілька зрізів товщиною до 1 мм. З різних частин плоду:

- від верхівки до основи в площині, що поділяє бульбу на рівні половинки;
- поперекові (біля основи та верхівки);
- з боків бульби;
- з ділянок навколо вічок (проростки).

2. Зрізи кладуть у чашку Петрі зрізами догори та краплями наносять реактиви в такій послідовності: концентрована ацетатна кислота (80-90%), потім концентрована сульфатна кислота, і, нарешті, кілька крапель 5 % перекису водню. Майже миттєво в місцях зрізів, що містять соланін з'являється інтенсивне темно-малинове або червоне забарвлення (рис. 3).



Рис. 2. Ознаки кольорової реакції Нілова на соланін у картоплі

II. Органолептична проба.

Значний вміст соланіну в бульбах може бути визначений за неприємним смаком. Для цього середню частину картоплини відварити до готовності. Після охолодження оцінити запах та смак (присмак) відвару та зразків картоплі. Описати отримані результати.

Відмітити, чи співпадають органолептичні показники із результатами кольорової якісної реакції та зробити відповідні висновки, зазначивши небезпечність вживання неякісної картоплі для здоров'я людини.

Питання для самоперевірки

1. Охарактеризуйте природні алкалоїди та їх значення для здоров'я людини.
2. Які особливості дії природних отрут? Що називають гемолітичними та нервово-паралітичними отрутами? Приведіть приклади природних гемолітичних отрут.
3. Токсикологічні характеристики та значення соланіну.
4. Умови утворення соланіну в овочевих рослинах. В яких овочах поширений соланін та яким чином можна зменшити його вміст?
5. Кольорова та органолептична проба виявлення соланіну в картоплі.

Лабораторна робота № 5

ВИВЧЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНОГО ВПЛИВУ ТИПОВИХ ЗАБРУДНЮВАЧІВ ПОВІТРЯ НА ЖИВІ ОРГАНІЗМИ

Мета роботи: провести дослід з проростанням насіння у середовищі концентрованої сульфатної та нітратної кислоти. Встановити групу рослин, насіння якої, є найбільш стійким до впливу парів концентрованих кислот.

Основні поняття

Основними джерелами забруднення повітря в урбоекосистемах є промислові підприємства, підприємства теплоенергетики та автомобільний транспорт. Типовими забруднювачами повітря від стаціонарних джерел забруднення є оксиди сірки, азоту, вуглецю. Вони можуть взаємодіяти із водяною парою у складі повітря, при цьому утворюються кислоти, які випадають у вигляді кислотних опадів. Кислотні дощі призводять до закислення водойм, ґрунтів, викликають некрози листя у рослин. Серед кислот, що утворюються найбільш небезпечними є сульфатна та нітратна кислоти. Сульфатна концентрована кислота досить сильний окисник. Вона має здатність вбирати водяну пару, чим пояснюється обвуглювання багатьох органічних речовин, особливо тих, що належать до класу вуглеводнів. При розчиненні сульфатної кислоти у воді виділяється велика кількість теплоти. Як сильна кислота вона відноситься до отрут, що викликають опіки шкіри, подразнення слизових оболонок, і є «шлунково-кишковою» отрутою.

Основними забруднювачами атмосфери у містах, крім промислових підприємств, є автомобілі. Вони викидають у повітря більш ніж 200 різних речовин, серед яких дуже сильні отрути: оксиди карбону та нітрогену, сажу, ароматичні сполуки серед яких значна кількість є канцерогенні.

Джерелами викидів шкідливих речовин є відпрацьовані гази автомобільних двигунів, випаровування з системи живлення, підтікання пального і мастил у процесі роботи та обслуговування автомобілів, а також продукти зносу фрикційних накладок зчеплення, накладок гальмівних колодок, шин. Вихлопні гази автомобілів розповсюджуються на відстань 20-30 м. Вони створюють поблизу джерела забруднення концентрації шкідливих

речовин, що в десятки разів перевищують гранично допустимі.

Найбільшу небезпеку становить забруднення атмосфери відпрацьованими газами автомобільних двигунів. У таблиці 1 приведено склад відпрацьованих газів автомобілів. Зауважимо, що з наведених компонентів лише азот, кисень, вода і діоксид вуглецю не токсичні, решта – є токсичними.

Таблиця 1

Склад відпрацьованих газів автомобілів

| Компоненти | Бензинові двигуни | Дизельні двигуни |
|-------------------------------------|-------------------|------------------|
| Азот, % | 74 – 77 | 76 – 78 |
| Кисень, % | 0,3 – 8,0 | 2,0 – 18,0 |
| Пари води, % | 3,0 – 13,5 | 0,5 – 10,0 |
| Вуглекислий газ, % | 5,0 – 12,0 | 1,0 – 10,0 |
| Діоксид карбону, % | 5,0 – 14,0 | 1,0 – 12,0 |
| Оксид карбону, % | 0,1 – 10,0 | 0,01 – 0,3 |
| Оксиди нітрогену, % | 0,1 – 0,5 | 0,001 – 0,4 |
| Альдегіди, % | 0 – 0,2 | 0,001 – 0,009 |
| Вуглеводні, % | 0,2 – 3,0 | 0,01 – 0,5 |
| Сірчаний газ, % | 0 – 0,002 | 0 – 0,03 |
| Оксид сульфуру, % | 0 – 0,003 | 0 – 0,015 |
| Сполуки плюмбуму, мг/м ³ | 0 – 60 | - |
| Сажа, г/м ³ | 0 – 0,4 | 0,01 – 1,1 |
| Бенз(а)пірен, мг/м ³ | 0,01 – 0,02 | До 0,01 |

Хоча діоксид вуглецю не токсичний компонент, накопичення його в атмосфері небезпечно, оскільки призводить до виникнення так званого парникового ефекту.

Найбільш небезпечними та отруйним є чадний газ (СО). Він утворює міцні хімічні зв'язки з гемоглобіном еритроцитів крові людини, витісняє кисень, внаслідок чого останні втрачають свою функцію. В організмі людини замість оксигемоглобіну утворюється карбоксигемоглобін. Людина втрачає свідомість і може загинути. Гранично допустимі концентрації оксиду вуглецю (СО) в атмосфері

не повинні перевищувати 0,03 мг/л. Оксид карбону інертний і зберігається в повітрі 0,1-5 років. Підвищення його концентрації виникає в тунелях, гаражах, інтенсивних транспортних потоках.

Монооксид нітрогену (NO) виникає в малих кількостях при роботі двигунів внутрішнього згорання. У вихлопних газах присутній також NO₂, який утворюється не тільки при роботі двигунів автомобілів, а також і при повільному окисленні NO. Крім того автомобільні двигуни викидають у атмосферу продукти неповного згорання, в основному вуглеводні – олефіни й альдегіди, які, окислюючись в атмосфері, дають пероксіацилнітриати, що мають подразнюючу дію на зір і перешкоджають диханню.

У відпрацьованих газах міститься кілька десятків різних вуглеводнів, які різняться за токсичністю. Джерелом вуглеводневих сполук є шари паливної суміші, прилеглі до стінок камери згорання, де відбувається гасіння полум'я, частини камери згорання, в яких через нерівномірний розподіл суміші виникає нестача кисню, а також циліндри, що працюють з пропусками запалювання та згорання.

Вплив небезпечних речовин на навколишнє середовище може викликати незворотні зміни і навіть загибель флори і фауни. Токсичні речовини впливають на анатомічну будову і функції рослин. Такі порушення можуть супроводжуватися візуальними змінами. Спостерігається некроз, побуріння або скручування, зменшення розмірів, часткове або повне опадання хвої та листя. В цілому картина пошкодження досить різноманітна і неспецифічна. Одна й та ж сама шкідлива речовина викликає у різних видів рослин різні ефекти, а один і той же ефект можуть викликати різні речовини. Шляхом експериментів встановлено реакції певних видів рослин на дію конкретних забруднювачів повітря. Так, виявлено, що до діоксиду сульфуру (SO₂) дуже чутливі конюшина, квасоля, мохи, лишайники. Лишайники, взагалі, настільки чутливі до забруднення атмосфери, що використовуються

як біоіндикатори. В той же час, досить стійкими до забруднення атмосфери є гінко, ялина, модрина, туя, ялівці, тополі, верби, липа.

Вплив атмосферного забруднення проявляється, в першу чергу, у зміні фізіологічних процесів у рослин. Встановлено, що під дією промислових газів у рослин з'являються порушення регулюючої функції продихів, руйнується протоплазма і хлоропласти, спостерігається потовщення стінок у клітинах палисадної паренхіми, збільшується проникливість клітинних оболонок, відбувається деформація клітин мезофілу, пригнічується процес поділу і розтягування клітин. В той же час, в 1,5 – 2 рази знижується інтенсивність транспірації, пригнічується фотосинтез. В подальшому, у рослин спостерігаються пригнічення росту і розвитку надземної частини і кореневої системи.

За стійкістю до впливу H_2SO_4 рослини поділяють на три групи:

I група:

Клен (*Acer L.*), хризантема (*Chrysanthemum L.*), жито (*Secale L.*), картопля (*Solanum tuberosum L.*), бузок (*Syringa L.*), цибуля (*Allium L.*), троянда (*Rosa L.*);

II група:

Люцерна (*Medicago L.*), ячмінь (*Hordeum L.*), квасоля (*Phaseolus L.*), морква (*Daucus L.*), цикорій (*Cichorium L.*), конюшина (*Trifolium L.*), салат посівний (*Lactuca sativa L.*), овес (*Avena L.*), гарбуз (*Cucurbita L.*), редька (*Raphanus L.*), ревіль (*Rheum L.*), сальвія (*Salvia seguiev L.*), буряк столовий (*Beta vulgaris*), тютюн (*Nicotiana L.*), турнепс (*Brassicarapa L.*), пшениця (*Triticum L.*);

III група:

Яблуня (*Malus L.*), абрикос (*Armeniaca Scop.*), айстра (*Aster L.*), бегонія (*Beta vulgaris L.*), капуста (*Brassica L.*), вишня (*Cerasus Mill.*), гладіолус (*Gladiolus L.*), виноград (*Vitis L.*), груша (*Pyrus L.*), слива (*Prunus L.*), цукровий буряк

(*Beta vulgaris saccharifera*), помідор (*Lycopersicon Mill.*), диня (*Melo Mill.*)

Групи рослин за стійкістю до впливу HNO_3

I група:

ячмінь (*Hordeum L.*), квасоля (*Phaseolus L.*), синій баклажан (*Solanum melongena*), салат посівний (*Lactuca sativa L.*), цибуля (*Allium L.*), петрушка (*Petroselinum Hill.*), редька (*Raphanus L.*), ревінь (*Rheum L.*), помідор (*Lycopersicon Mill.*), турнепс (*Brassicarapa L.*), сосна (*Pinus L.*).

II група:

капуста (*Brassica L.*), диня (*Melo Mill.*), огірок (*Cucumis L.*), глідіолус (*Gladiolus L.*), кабачок (*Cucurbita pepo L.*);

III група:

Люцерна (*Medicago L.*), селера (*Arium L.*), овес (*Avena L.*), петунія (*Petunia Luss.*), шпинат (*Spinacia L.*) буряк столовий (*Beta vulgaris*), буряк цукровий (*Beta vulgaris saccharifera*), тютюн (*Nicotiana L.*),

Матеріали та обладнання: розчини концентрованої сульфатної та нітратної кислот; скляні чашки Петрі, ексикатор, скляні стаканчики, фільтрувальний папір, вата, насіння різних рослин або зразки рослин (молоді пагони в горщечках).

Хід роботи

1. В чашки Петрі на вату помістити насіння рослин, що відрізняються стійкістю до впливу парів кислот. З цією метою відбирають насіння рослин що належать до різних груп. Для детального вивчення впливу кислотних оксидів обираємо декілька видів рослин з кожної групи.
2. Для насіння в чашках Петрі необхідно створити умови для проростання: необхідна кількість вологи, світло, температура.

3. Чашки Петрі з насінням помістити в ексікатор, який щільно закривається, в який помістити стакан чи ємність з розчином концентрованої кислоти.
4. Аналогічно приготувати контрольний дослід. З цією метою закласти насіння у чашки Петрі та помістити їх у ексікатор, в якому немає розчину кислот.
5. Провести досліди з проростанням насіння у середовищі концентрованої сульфатної та нітратної кислоти.
6. Відмітити результати проростання та довжину коренів і проростків на 7, 14, 21 день від початку дослідження.
7. Результати проростання насіння занотувати в таблицю 2, та представити графічно у вигляді діаграми (залежність проростання насіння від часу). Окремо представити результати для дослідження з сульфатною H_2SO_4 та нітратною HNO_3 кислотами.

Таблиця 2

Кількісна оцінка проростання насіння

| Номер групи | Вид рослин | Кількість насіння | Кількість насінин, що проросло | | | | | | |
|-------------|------------|-------------------|--------------------------------|----|----|-------------------|----|----|--|
| | | | Дослідні зразки | | | Контрольні зразки | | | |
| | | | День тижня | | | День тижня | | | |
| | | | 7 | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |

8. В відповідні дні дослідження виміряти і відмітити довжину коренів та проростків. Результати занотувати в таблицю 3. Провести статистичну обробку результатів та побудувати графічну

залежність довжини коренів та ростків рослин від часу досліду.

9. За результатами спостережень встановити, насіння якої групи рослин є найбільш і найменш стійким до впливу парів концентрованих кислот.

Провести аналогічний дослід, використовуючи в якості токсиканта розчин концентрованої нітратної кислоти.

Таблиця 3

Довжина коренів та проростків насіння на 7-й, 14-й та 21-й дні дослідження

| Номер групи | Вид рослин | Довжина, мм | | | | | |
|-------------|------------|------------------|----|----|-------------------|----|----|
| | | Дослідні зразки | | | Контрольні зразки | | |
| | | День дослідження | | | День дослідження | | |
| | | 7 | 14 | 21 | 7 | 14 | 21 |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

Результат представляємо у вигляді дробу, в чисельнику довжина корінців, а в знаменнику - проростків).

10. Зробити відповідні висновки та встановити значення кислотоутворюючих токсикантів, що спричиняють пригнічення росту і розвитку рослин різних груп.

Запитання для самопідготовки

1. Які небезпечні речовини містяться у атмосферному повітрі, що є джерелами їх надходження?
2. Які процеси відбуваються в рослинах під дією на них небезпечних речовин?

3. Що називають фітотоксичним ефектом? Як він визначається?
4. Що називають токсикантами. До якого класу токсикантів відносять нітратну та сульфатну кислоти?
5. В якій галузі можна застосовувати результати досліджень?

Лабораторна робота № 6

БІОТЕСТУВАННЯ МЕТОДОМ ПРОРОСТКІВ

Мета роботи: визначити реакції тест-культур на забруднені токсикантами воду та ґрунт.

Основні поняття

Поширення екотоксикантів у навколишньому середовищі призвело до необхідності розробки методів, які спрямовані на оперативну оцінку токсичності. Інструментальні методи дозволяють визначати вміст токсикантів, але на підставі отриманих результатів неможливо передбачити сумарну фітотоксичність, наприклад, ґрунту. Тому на сьогодні запропоновано різні методи біотестування. Одним із найбільш перспективних є метод проростків, перевагою якого є експресність і відносна нетрудомісткість.

Метод, заснований на реакції тест-культур (кукурудза *Zea mays* L. сорту Дніпровська 247 або м'якої пшениці *Triticum aestivum* L.) і 179 дозволяє визначати токсичну дію тих чи інших полютантів. За цим методом бажано обирати тест-культуру, яка є характерною для конкретного регіону. Наприклад, кукурудза – це культура, яка широко розповсюджена на території України і характеризується високими коефіцієнтами накопичення речовин (500-800 од.).

У досліді використовують чотирьохдобові проростки, пророщені в термостаті при температурі 24 °С у чашках Петрі на зволоженому фільтрувальному папері (протягом 72 год.). Для досліді відбирають проростки, довжини головних коренів яких досягають 20-30 мм.

Насіння тест-культур висаджують у вегетаційні судини, які заповнені ґрунтом або водою з досліджуваних місць. Оскільки одним з основних забруднювачів атмосферного повітря і ґрунту є автомобільний транспорт, для проведення аналізу можна брати, наприклад, ґрунт уздовж автомобільної дороги і з ділянки, віддаленої від останньої.

Під час проведення досліді фіксують схожість, енергію проростання, довжину наземної і кореневої системи, масу сухої речовини. Дослід проводиться на світлових стелажах при підтримці постійної вологості ґрунту. На кожній посудині висівають певну кількість тест-культур. Протягом певного часу (десяти днів) ведуться спостереження за проростками за наступними показниками: час появи сходів та їх число на кожен добу; загальна схожість; довжина наземної частини сходів.

Після закінчення досліді рослини обережно виймають із землі, просушують, ретельно струшують залишки ґрунту та вимірюють остаточну довжину наземної частини рослин і довжину коренів (якщо проростки висаджені на ємності з водою, то вимірювання коріння і наземної частини потрібно проводити кожного дня). Потім висушують рослини на повітрі й окремо зважують біомасу надземних частин і коренів.

Фітотоксичний ефект ФЕ (%) розраховують за формулою:

$$\text{ФЕ} = [(M_k - M_x) / M_k] \times 100\% ,$$

де M_k – маса контрольної рослини (або всіх контрольних рослин на посудину); M_x – маса рослин, які вирощені на фітотоксичному середовищі.

Обладнання: чашки Петрі, пробірки, фільтрувальний папір, термостат, проби води або ґрунту, насіння кукурудзи або горох.

Хід роботи

1. Відібрати тест-культури на різних відстанях від дороги (в межах санітарно-захисної зони різних підприємств).

2. Підготувати проби води та ґрунту.

3. Поставити насіння для пророщування в термостат.

4. Висадити проростки на воду або ґрунт.

5. Провести вимірювання наземної та кореневої частини проростків.

6. Висушити рослини та зважити наземну частину та коріння рослин. Результати занести в таблицю 1.

Таблиця 1

Результати вимірювань довжини та ваги надземної і підземної частин дослідних рослин

| Показники | Проростки, відібрані на відстані від дороги | Проростки, відібрані поблизу дороги |
|-------------------------------|---|-------------------------------------|
| Довжина кореня, см | | |
| Довжина надземної частини, см | | |
| Вага надземної частини, мг | | |
| Вага коріння, мг | | |

7. Розрахувати фітотоксичний ефект.

8. Сформулювати висновки по роботі.

Питання для самоперевірки

1. Що таке тест-культура?
2. Що називають фітотоксичним ефектом?
3. Як встановлюється фітотоксичний ефект?
4. Перелічіть ефекти, які виникають при дії токсиканту на рослини.
5. У чому полягає синергічна дія токсиканту?
6. Назвіть переваги біотестування методом проростків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Про затвердження Державних гігієнічних правил і норм «Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах» : наказ Міністерства охорони здоров'я України від 13.05.2013 р. № 368. (чинна редакція від 04.02.2021). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0774-13#Text> (дата звернення: 25.08.2023)

2. Корінець Ю. Я., Панас Н. Є. Екотоксикологія : навч. посіб. / 2-ге вид., доп. і перероб. Херсон : ОЛДІ ПЛЮС, 2019. 396 с.

3. Григор'єва Л. І., Томілін Ю. А. Екологічна токсикологія та екотоксикологічний контроль : навч. посіб. Миколаїв : Вид-во ЧДУ імені Петра Могили, 2015. 240 с.

4. Євтушенко М. Ю., Дудник С. В. Водна токсикологія : підручник для студ. вищих навч. закл; вид. 2-ге, перероб. і доп. Херсон : ОЛДІ ПЛЮС, 2019. 589 с.

5. Лабораторний практикум з екології (основ екології) : навч. посіб. / М. О. Клименко, О. А. Ліхо та ін. Рівне : НУВГП, 2018. 250 с.

6. Основи екологічної токсикології : навч. посіб. / Е.Б. Хоботова, М. І. Уханьова, О. М. Крайнюков. Харків : видавництво ХНАДУ, 2012. 280 с.

7. Петровська М. Екологічна токсикологія : навчально-методичний посібник. Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2014. 116 с.

8. Біоіндикація. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт студентами напряму підготовки 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» / А. І. Горова, А. В. Павличенко, О. О. Борисовська, В. Ю. Грунтова, О. В. Деменко; Дніпропетровськ : Національний гірничий університет, 2014. 76 с.

9. Основи екологічної токсикології. Методичні рекомендації до виконання практичних робіт з дисципліни студентами напряму підготовки 6.040106 Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування / І. І. Клімкіна, В. Ю. Грунтова. Дніпропетровськ : НГУ, 2015. 44 с.